

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA - UFSC

CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICAS

CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**UTILIZAÇÃO DO PIRENO COMO UMA Sonda
FLUORESCENTE NA INVESTIGAÇÃO DE LIGAÇÕES
INTERMOLECULARES EM MISTURAS BINÁRIAS DE
SOLVENTES**

MARCOS ANDRÉ DO REGO SILVA

Dissertação submetida à Universidade
Federal de Santa Catarina como parte
dos requisitos para a obtenção do grau
de Mestre em Química.

Florianópolis-SC, 2002

UTILIZAÇÃO DO PIRENO COMO UMA Sonda FLUORESCENTE NA INVESTIGAÇÃO DE LIGAÇÕES INTERMOLECULARES EM MISTURAS BINÁRIAS DE SOLVENTES

MARCOS ANDRÉ DO REGO SILVA

Esta dissertação foi julgada e aprovada em sua forma final pelo orientador,
co-orientador e membros da banca examinadora.

Banca Examinadora

Professora Dr.^a Vera L.A. Frescura
Orientadora - UFSC

Professor Dr. Vanderlei Gageiro Machado
Co-orientador - UNISUL

Professor Dr. Claudemir Marcos Radetski
UNIVALI

Professora Dr.^a Maria Marta de Souza Sierra
UFSC

Professor Dr. Valdir Soldi
Coordenador - UFSC

“A Ciência é o instrumento do espírito ocidental, e podemos abrir mais portas com ela do que de mãos vazias; só obscurece a visão quando apregoa que o único gênero de saber é o que está de acordo com ela.”

(Carl Gustav Jung)

*Aos meus pais, Silvio e Irene, à minha irmã
Juliana, e à minha amada Rita. Mais do que
especiais, vocês representam o maior presente
que a vida pode me dar.*

AGRADECIMENTOS

À prof.^a Dr.^a Vera Frescura, pela orientação deste trabalho e por sua amizade.

Ao prof. Dr. Vanderlei Gageiro Machado, por sua grande colaboração com este trabalho e por todos os ensinamentos transmitidos, principalmente através de seu próprio exemplo como pesquisador de extrema habilidade, determinação, competência e humildade. Meu muito obrigado.

Ao prof. Faruk Nome pela amizade e experiência compartilhadas e por haver gentilmente cedido as instalações de seu laboratório, onde a maior parte dos experimentos foi realizada.

A todos os professores da banca examinadora por aceitarem o convite e pelas valiosas sugestões.

Ao prof. Dr. Dino Zanette e ao Ângelo Ruzza pelo uso do equipamento.

Aos secretários da pós-graduação Graça e Jadir.

Aos órgãos financiadores CAPES, CNPq e PRONEX.

Aos colegas do laboratório 210 pelo convívio e amizade, e à Elisane pela colaboração neste trabalho.

À Rita pela paciência, compreensão e amor sempre presente.

Aos meus pais Silvio e Irene e a minha irmã Juliana, pela confiança, amor, união e apoio em todos os momentos.

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

CH_2Cl_2	Diclorometano
CH_3CN	Acetonitrila
THF	Tetraidrofurano
DMSO	Dimetilsulfóxido
DMF	<i>N,N</i> -dimetilformamida
H_2O	Água
MeOH	Metanol
EtOH	Etanol
iso-PrOH	<i>Iso</i> -propanol
<i>n</i> -BuOH	<i>n</i> -Butanol
D_2O	Óxido de deutério
ΔH	Variação de entalpia de um sistema
ΔH_s°	Variação de entalpia padrão de dissolução
ΔS	Variação de entropia de um sistema
ΔS_s°	Variação de entropia padrão de dissolução
ΔG	Variação de energia livre de Gibbs de um sistema
ΔG_s°	Variação de energia livre de Gibbs padrão de dissolução
$\Delta G_{\text{solv}}^\circ$	Variação de energia livre de Gibbs de solvatação
T	Temperatura (em Kelvin)
UV-VIS	Ultravioleta e visível

IV	Infravermelho
RMN	Ressonância magnética nuclear
1, 2 e 3	Em negrito, referem-se ao 2,6-difenil-4-(2,4,6-trifenil-1-piridínio)-1-fenolato, ao iodeto de 1-etil-4-metoxycarbonilpiridínio, e ao pireno respectivamente.
$E_T(30)$	O parâmetro $E_T(30)$ é definido como a energia de excitação (kcal mol^{-1}) do corante 1 em um solvente particular. É usado como um parâmetro empírico de polaridade de solvente.
E_T^N	Parâmetro normalizado, usado como opção ao $E_T(30)$. Obtido a partir da utilização do valor de $E_T(30)$ do solvente desejado, através da equação: $E_T^N = \frac{E_T(\text{solvente}) - 30,7}{32,4}$
S_1, S_2 e S_{12}	Representam respectivamente o solvente aprótico, o solvente prótico e uma estrutura comum S_{12} formada pela interação de S_1 e S_2 .
I, II...V	Cada número refere-se respectivamente a uma das cinco bandas vibrônicas do espectro de emissão $\pi^* \rightarrow \pi$ do monômero do pireno.
$Py = I / III$	A escala Py , derivado de “pyrene”, é um parâmetro empírico de polaridade do solvente. É baseada no valor da razão das intensidades de emissão das bandas vibrônicas <i>I</i> e <i>III</i> do pireno em cada solvente puro.
<i>a, b e p*</i>	Parâmetros de Kamlet-Taft. <i>a</i> reflete a tendência de um solvente fornecer hidrogênio para participar de uma ligação de hidrogênio; <i>b</i> reflete a tendência de um solvente receber hidrogênio para participar de uma ligação de hidrogênio e <i>p*</i> é uma escala baseada nos deslocamentos induzidos pelo solvente da banda de absorção $\pi \rightarrow \pi^*$ de maior comprimento de onda de indicadores nitroaromáticos.
$f_{2/1}$ e $f_{12/1}$	Parâmetros de solvatação preferencial os quais medem, respectivamente, a tendência de solvatação do pireno pelos solventes S_2 e S_{12} com relação ao solvente S_1 .
$I/III_1, I/III_2$ e I/III_{12}	Valores de I/III dos solventes S_1, S_2 e S_{12} na esfera de

solvatação do pireno.

ROH(%)	Porcentagem molar estimada do componente hidroxílico na camada de solvatação da sonda.
d_{SP}	Extensão da solvatação preferencial.
X_1^L , X_2^L e X_{12}^L	Frações em mol dos componentes S_1 , S_2 e S_{12} na região cibotática da sonda respectivamente.
X_1 e X_2	Fração em mol total do solvente aprótico e prótico, respectivamente, na mistura total.

RESUMO

A fluorescência do pireno, uma sonda hidrofóbica, foi investigada em misturas binárias compreendendo um solvente não prótico [acetonitrila, *N,N*-dimetilformamida (DMF), dimetilsulfóxido (DMSO) e tetraidrofurano (THF)] e um solvente prótico (água, metanol, etanol, *iso*-propanol e *n*-butanol). A variação nos valores I_{III} , a razão da intensidade entre a primeira e a terceira banda das estruturas finas vibrônicas do espectro de emissão, junto com a variação da concentração do componente mais polar foi estudada para cada mistura binária. Um modelo de solvatação preferencial foi adaptado da literatura e aplicado com sucesso aos dados experimentais. Nas misturas contendo acetonitrila, o pireno é sempre preferencialmente solvatado por este solvente. Entretanto, a extensão da solvatação preferencial pela acetonitrila diminui com o decréscimo na polaridade do cossolvente prótico. Esses resultados foram explicados pelo fato que o pireno é uma sonda altamente hidrofóbica. Assim, a troca de um cossolvente prótico mais polar por um que é mais hidrofóbico, pode levar a uma interação comparativamente mais forte da sonda com o cossolvente por meio de interações hidrofóbicas. Foi observado um comportamento sinérgico para as misturas binárias contendo THF e os álcoois estudados, para DMSO com água e metanol, e para DMF com água. Finalmente foram estudadas misturas de D₂O com DMF e de D₂O com DMSO e comparadas com as correspondentes misturas com água. Foi verificado que a extensão da solvatação preferencial em ambos os casos é diminuída se a água é substituída por óxido de deutério. Todos esses dados foram interpretados em termos de interações soluto-solvente e solvente-solvente.

ABSTRACT

The fluorescence of pyrene, a hydrophobic probe, was investigated in binary mixtures comprising a non-protic [acetonitrile, *N,N*-dimethylformamide (DMF), dimethyl sulfoxide (DMSO) and tetrahydrofuran (THF)] and a protic (water, methanol, ethanol, propan-2-ol and butan-1-ol) solvent. The variation in I_{343}/I_{327} values, the intensity ratios between the first and third bands in vibronic fine structures of the emission spectra, along with the variation of the more polar component was studied for each binary mixture. A preferential solvation model was adapted from the literature and it was successfully applied to the experimental data. In the mixtures containing acetonitrile, pyrene is always preferentially solvated by the non-protic component. However, the extent of preferential solvation by acetonitrile diminishes with the decrease in the polarity of the protic cosolvent. These results were explained by the fact that pyrene is a highly hydrophobic probe. Thus, changes in the more polar protic cosolvent for one which is more hydrophobic may lead to a comparatively stronger interaction of the probe with the cosolvent through hydrophobic interactions. Synergism was observed for binary mixtures comprising THF and the studied alcohols, for DMSO with water and methanol, and for DMF with water. Finally, D₂O-DMF and D₂O-DMSO mixtures were studied and compared with the corresponding H₂O mixtures. It was verified that the extent of the preferential solvation in both cases is diminished if water is replaced by deuterium oxide. All these data were interpreted in terms of solute-solvent and solvent-solvent interactions.

ÍNDICE GERAL

AGRADECIMENTOS.....	5
LISTA DE ABREVIATURAS.....	6
RESUMO.....	9
ABSTRACT.....	10
1- INTRODUÇÃO.....	16
1.1- Interações intermoleculares.....	18
1.1.1- Ligação de hidrogênio.....	18
1.1.1.1- Ligação de hidrogênio e ligação de deutério.....	21
1.1.2- Interações solvofóbicas.....	24
1.2- Sondas moleculares.....	27
1.2.1- Corantes solvatocrômicos.....	27
1.2.2- Sondas solvatofluorescentes.....	30
1.3- Solvatação.....	33
1.3.1- Solvatação preferencial.....	36
2- OBJETIVOS E JUSTIFICATIVA.....	41
3- PARTE EXPERIMENTAL.....	42
3.1- Materiais.....	42
3.2- Metodologia.....	42
3.2.1- Medidas de fluorescência.....	42
3.2.2- Efeito isotópico.....	43
3.2.3- Métodos de cálculo.....	43
4- RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	44
4.1- Estudos envolvendo os solventes puros.....	44
4.2- Estudo do modelo de solvatação preferencial.....	49
4.3- Estudo das misturas de solventes.....	51
4.3.1- Misturas com Acetonitrila.....	51
4.3.2- Misturas com Tetraidrofurano.....	55
4.3.3- Misturas com Dimetilsulfóxido.....	59
4.3.4- Misturas com N,N-Dimetil formamida.....	62
4.3.5- Estudo do efeito isotópico - Influência da mudança de água por D ₂ O nas misturas contendo DMF e DMSO.....	64
5- CONCLUSÕES.....	68

6- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	69
7- APÊNDICE.....	83
7.1- Modelos de solvatação preferencial.....	83
7.2- Valores de I/III para todas as misturas de solventes estudadas.....	90

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Representação diagramática da estrutura b de parte de uma proteína genérica.....	16
Figura 2. Representação do experimento de irradiação de raios-X sobre cristais de gelo.....	24
Figura 3. Formação da interação hidrofóbica de duas moléculas de hidrocarboneto.....	25
Figura 4. Esquema de reorientação do solvente na camada de solvatação de um soluto.....	31
Figura 5. Espectro de fluorescência do pireno em etanol.....	32
Figura 6. Representação de modelos para a solvatação de íons em solução..	35
Figura 7. Exemplo de ocorrência da solvatação preferencial, através do gráfico de E_T versus X_2	37
Figura 8. Exemplo de ocorrência da solvatação preferencial com presença de sinergia, através do gráfico de E_T versus X_2	39
Figura 9. Gráfico da razão das intensidades das bandas de fluorescência do pireno I_{III} versus os valores de p^* para solventes puros.....	46
Figura 10. Gráfico da razão das intensidades das bandas de fluorescência do pireno I_{III} versus os valores de a para solventes puros.....	47
Figura 11. Gráfico da razão das intensidades das bandas de fluorescência do pireno I_{III} versus os valores de b para solventes puros.....	47
Figura 12. Gráfico da razão das intensidades das bandas de fluorescência do pireno I_{III} versus os valores de E_T^N para solventes puros.....	48
Figura 13. Gráfico de valores de I_{III} para as bandas de emissão do pireno em misturas de acetonitrila com ROH (água, metanol, etanol, <i>iso</i> -propanol e <i>n</i> -butanol).....	52
Figura 14. Curvas de d_{SP} do pireno como uma função da fração em mol total de acetonitrila para misturas de acetonitrila com água, etanol e <i>n</i> -butanol.....	55
Figura 15. Gráfico de valores de I_{III} para as bandas de emissão do pireno em misturas de tetraidrofurano com ROH (água, metanol, etanol, <i>iso</i> -propanol e <i>n</i> -butanol).....	57
Figura 16. Gráfico de valores de I_{III} para as bandas de emissão do pireno em misturas de DMSO com ROH (água, metanol, etanol, <i>iso</i> -propanol e <i>n</i> -butanol).....	61

Figura 17. Gráfico de valores de I_{III} para as bandas de emissão do pireno em misturas de DMF com ROH (água, metanol, etanol, *iso*-propanol e *n*-butanol)..... 63

Figura 18. Gráfico de valores de I_{III} para as bandas de emissão do pireno em misturas de DMF com D₂O e DMSO com D₂O..... 66

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Classificação das forças intermoleculares.....	18
Tabela 2. Parâmetros termodinâmicos para a dissolução de metano em água e em cicloexano.....	26
Tabela 3. Propriedades físicas de alguns solventes próticos e apróticos.....	45
Tabela 4. Parâmetros das misturas com acetonitrila obtidos dos dados experimentais.....	51
Tabela 5. Composição percentual de ROH na camada de solvatação do pireno em misturas binárias de acetonitrila.....	53
Tabela 6. Parâmetros das misturas com THF obtidos dos dados experimentais.....	56
Tabela 7. Parâmetros das misturas com DMSO obtidos dos dados experimentais.....	60
Tabela 8. Parâmetros das misturas com DMF obtidos dos dados experimentais.....	62
Tabela 9. Parâmetros das misturas com óxido de deutério obtidos dos dados experimentais.....	65
Tabela 10. Valores de I/III para misturas binárias de acetonitrila com diferentes solventes próticos (água, metanol, etanol, <i>iso</i> -propanol e <i>n</i> -butanol).....	90
Tabela 11. Valores de I/III para misturas binárias de THF com diferentes solventes próticos (água, metanol, etanol, <i>iso</i> -propanol e <i>n</i> -butanol).....	91
Tabela 12. Valores de I/III para misturas binárias de DMSO com diferentes solventes próticos (água, metanol, etanol, <i>iso</i> -propanol e <i>n</i> -butanol).....	92
Tabela 13. Valores de I/III para misturas binárias de DMF com diferentes solventes próticos (água, metanol, etanol, <i>iso</i> -propanol e <i>n</i> -butanol).....	93
Tabela 14. Valores de I/III para misturas binárias de DMF com D ₂ O.....	94
Tabela 15. Valores de I/III para misturas binárias de DMSO com D ₂ O.....	95

1– INTRODUÇÃO

O fenômeno das *interações intermoleculares* em fase líquida representa um assunto de constante interesse por parte dos pesquisadores. Como um exemplo, é conhecida a importância destas interações na estabilização de proteínas em sistemas biológicos. Nas células, as proteínas são normalmente encontradas em sua conformação nativa como monômeros ou multímeros contendo vários peptídeos, os quais são estabilizados por *interações eletrostáticas*, *ligações de hidrogênio* e *interações hidrofóbicas*.¹

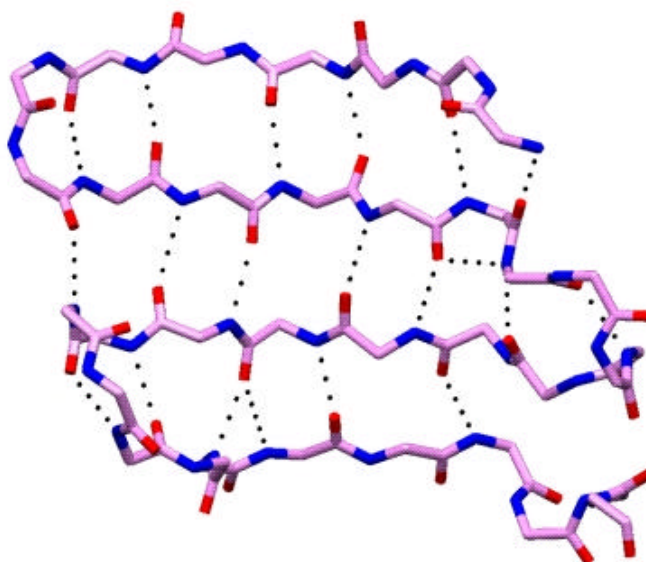


Figura 1- Representação diagramática da estrutura ***β*** ou em folha pregueada de parte de uma proteína genérica. O grupo NH (em azul) está unido ao átomo de oxigênio (em vermelho) da cadeia paralela por ligações de hidrogênio.

As interações hidrofóbicas constituem a força dominante no enovelamento das proteínas e na estabilização da sua estrutura.² Elas desempenham ainda um papel importante em outros processos biológicos, tais como nas interações antígeno-anticorpo,³ nas interações enzima-substrato e na manutenção da estrutura da bicamada lipídica das membranas biológicas.⁴

Além das interações hidrofóbicas, a ligação de hidrogênio também desempenha um papel importante na estabilização e na forma das grandes

moléculas biológicas em organismos vivos, tais como a celulose, as proteínas e os ácidos nucléicos.

Os estudos das interações intermoleculares, além de auxiliarem na compreensão de fenômenos que ocorrem em sistemas biológicos, também contribuem de certa forma para o entendimento da própria química em solução. Para auxiliar a compreensão desses estudos, uma grande atenção é dada às investigações das propriedades do meio. A importância do solvente para a estabilidade da estrutura terciária de proteínas, por exemplo, é um fato bem conhecido. Além disso, a influência do meio nas propriedades de um soluto representa um fenômeno de importância fundamental na Química.^{5,6} Os efeitos dessa natureza são geralmente interpretados como resultantes de mudanças na polaridade, um termo geral que compreende a capacidade de solvatação do meio⁷ e que depende de todas as interações intermoleculares (específicas e não específicas) possíveis entre moléculas do soluto e do solvente.

O estudo do fenômeno da solvatação preferencial utilizando sondas moleculares pode fornecer muitas informações para a compreensão das interações intermoleculares. Neste trabalho, o pireno será usado como uma sonda fluorescente na investigação da solvatação preferencial em diversos solventes misturados. Assim, torna-se útil fazermos uma revisão dos principais tipos de interação que serão estudados neste trabalho (as ligações de hidrogênio e as interações solvofóbicas) e também rever alguns conceitos sobre os corantes solvatocrômicos, empregados como sondas moleculares, e sobre o fenômeno da solvatação preferencial.

1.1-Interações intermoleculares

As interações intermoleculares, definidas como as forças que ocorrem entre as moléculas, são geralmente classificadas em duas categorias distintas.⁵ A primeira compreende as forças direcionais de indução e de dispersão (forças de van der Waals), que são as não específicas. Ao segundo grupo pertencem a ligação de hidrogênio e as forças de transferência de carga ou forças receptoras-doadoras de pares de elétrons. A este último grupo pertencem as forças direcionais específicas. (Tabela 1).

Tabela 1 - Classificação das forças intermoleculares, segundo Reichardt.⁵

Interações não específicas (forças de van der Waals)	1)forças íon-dipolo; 2)forças dipolo-dipolo; 3)forças dipolo-dipolo induzido, 4)forças dipolo instantâneo-dipolo induzido (forças de dispersão de London);
Interações específicas	5)ligações de hidrogênio; 6)interações doadoras-receptoras de pares de elétrons (interações DPE/RPE); 7)interações solvofóbicas.

1.1.1- Ligação de hidrogênio

O primeiro artigo definitivo sobre ligação de hidrogênio, aplicado à associação de moléculas de água, foi publicado em 1920 por Latimer e Rodebush,⁸ embora a sua conceituação tenha sido introduzida em 1919 por Huggins. Uma definição geral para a ligação de hidrogênio seria a seguinte: *quando um átomo de hidrogênio ligado covalentemente forma uma segunda ligação com um outro átomo, esta ligação é chamada de ligação de hidrogênio.*

Uma ligação de hidrogênio é formada pela interação dos pares R-X-H e :Y-R', de acordo com a equação 1.



O R-X-H é o doador de próton e o :Y-R' torna disponível um par de elétrons para a ligação de hidrogênio. Os átomos X e Y apresentam eletronegatividade maior do que a do hidrogênio (por exemplo, C, N, P, O, S, F, Cl, Br, I). Assim, a ligação de hidrogênio pode ser considerada como um passo preliminar em uma reação ácido-base de Bronsted, a qual leva a um produto de reação que é de natureza dipolar.



Tanto ligações de hidrogênio intermoleculares como intramoleculares são possíveis, estas últimas ocorrendo quando X e Y pertencem à mesma molécula.

Os doadores de pares de elétrons (ou receptores de prótons para formar ligação de hidrogênio) mais importantes são os átomos de oxigênio nos álcoois, éteres, e compostos carbonílicos, bem como átomos de nitrogênio nas aminas e compostos *N-heterocíclicos*. Os grupos *hidroxi-*, *amino-*, *carboxil-* e *amida* são os grupos doadores de próton mais importantes. Ligações de hidrogênio fortes são formadas pelos pares O-H \cdots O, O-H \cdots N, e N-H \cdots O. Ligações um pouco mais fracas são formadas por N-H \cdots N e ainda bem mais fracas por Cl₂C-H \cdots O e Cl₂C-H \cdots N. Os sistemas com *elétrons p* de compostos aromáticos, alcenos e alcinos também podem atuar como receptores fracos de ligação de hidrogênio.

As questões referentes à exata geometria das ligações de hidrogênio (distâncias e ângulos) já foram revisadas.⁹

As entalpias de dissociação das ligações de hidrogênio normais são de cerca de 13 a 42 kJ/mol (3 a 10 kcal/mol). Para fins de comparação, as ligações covalentes simples possuem entalpias de dissociação de 210 a 420 kJ/mol (50 a

100 kcal/mol). Assim, as ligações de hidrogênio são aproximadamente 10 vezes mais fracas do que as ligações covalentes simples e aproximadamente 10 vezes mais fortes do que as forças de interação intermolecular não específicas.

A definição precisa da ligação de hidrogênio continua sendo duvidosa.¹⁰ A natureza das interações físicas que contribuem com as ligações de hidrogênio tem sido tema de numerosas discussões na literatura química. Em um extremo, as ligações de hidrogênio são atribuídas a interações puramente eletrostáticas, ou eletrostáticas mais interações de polarização; em outro extremo, as interações covalentes são tidas como sendo extremamente importantes na ligação de hidrogênio. A comparação entre os dímeros unidos por ligação de hidrogênio $\text{H}_2\text{O}/\text{HF}$ e $\text{H}_2\text{O}/\text{HCN}$ é bastante útil.¹¹

Uma interação eletrostática dipolo-dipolo do dipolo da água e daquele com ambos os doadores de H poderiam levar a um dímero plano. Entretanto, prevê-se que o primeiro seja não plano e o segundo plano. Evidentemente, deve existir uma diferença nas interações por ligação de hidrogênio. Fowler e Legon relataram evidências para a transferência parcial de H do HCl para a trimetilamina em seus dímeros formados por ligação de hidrogênio.¹²

Kollman¹³ utilizou uma análise dos resultados de um cálculo *ab initio* para dividir a energia de interação do dímero da água em quatro componentes: eletrostático, de polarização, de transferência de carga e de dispersão. Neste estudo, os autores descobriram que as contribuições dos vários componentes variam com a distância intermolecular. Gilli sugeriu que certas ligações de hidrogênio podem ser estabilizadas por ressonância.¹⁴ Estas ligações de hidrogênio auxiliadas por ressonância devem logicamente possuir um caráter covalente apreciável. Elas são caracterizadas por interações $\text{X}\dots\text{H}\dots\text{X}$ muito curtas (onde X pode ser um átomo de oxigênio, por exemplo). Sua análise é amplamente baseada na interpretação de estruturas de cristais.

Dannenberg, estudando através de cálculos *ab initio* a molécula de uréia e de 1,3-cicloexanodiona, sugere que o termo ligação de hidrogênio designa interações intermoleculares que podem resultar de diferentes tipos de interações físicas. Assim, as conclusões obtidas de um estudo detalhado de uma ligação de

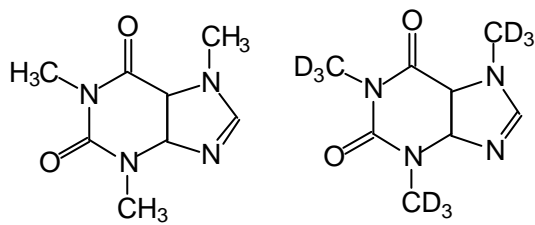
hidrogênio particular não necessariamente se aplicam às ligações de hidrogênio em geral. As ligações de hidrogênio podem ser devidas a interações eletrostáticas (e polarização) ou elas podem ter grandes componentes de ligação covalente. Um estudo apropriado sobre ligações de hidrogênio deve levar em conta os diferentes tipos de interações.¹⁵

1.1.1.1- Ligação de hidrogênio e ligação de deutério

O efeito isotópico geralmente se refere aos efeitos sobre as reações químicas que são causados pela substituição de átomos de hidrogênio por átomos de deutério em uma molécula. Estes efeitos incluem mudanças na velocidade de quebra de ligações covalentes com o deutério, ou com um átomo vizinho ao deutério, em uma molécula reagente.

Outros efeitos isotópicos do deutério, como interações não-covalentes envolvendo moléculas, também são conhecidos. Wade fez uma revisão das evidências para o efeito isotópico do deutério em interações não covalentes, com ênfase na interação de moléculas de interesse biológico.¹⁶ A base física do efeito deve-se às diferenças nas polaridades e/ou tamanhos dos isômeros deuterados em comparação com os não deuterados. A extensão do efeito do isótopo de deutério sobre uma interação não covalente depende do local da presença do deutério na molécula.

Falconnet,¹⁷ Brazier¹⁸ e Cherrah¹⁹⁻²¹ estudaram a ligação de isômeros da cafeína contendo diferentes composições em deutério com a albumina de soro humano (ASH), usando a técnica de diálise.



Cafeína

Cafeína-1,3,7-(CD₃)₃

Os valores das constantes de associação ou afinidade ($K_a = 1/K_D$) com a ASH para a cafeína, cafeína 1-CD₃, e cafeína-1,3,7-(CD₃)₃ não foram significativamente diferentes. Entretanto, os valores para outros dois parâmetros (o número de regiões ligadas na ASH e a porcentagem de cafeína ligada) diferiram para os isômeros deuterados em comparação com a cafeína. Os valores de K_a para a cafeína-3-CD₃, cafeína-1,7-(CD₃)₂ e cafeína-3,7-(CD₃)₂ foram significativamente menores do que aquele para a cafeína, indicando que a ASH possui uma afinidade menor por compostos deuterados. Estes três compostos também diferiram da cafeína com relação ao número de regiões ligadas na ASH e à porcentagem de cafeína ligada. Os pesquisadores descobriram que a substituição do grupo *N*-metil por um grupo trideuteriometil deve aumentar a ligação de hidrogênio com o nitrogênio da posição 1 das xantinas.²² Eles também indicaram que o local de modificação isotópica em uma molécula pode afetar suas propriedades físico-químicas (por exemplo, a ionização, a polarizabilidade, a solubilidade e geometria molecular) e que mudanças nessas propriedades podem ter influências consideráveis sobre a farmacocinética e a farmacodinâmica molecular (por exemplo, na distribuição, na ligação a proteínas transportadoras e na enzimologia).

Bechalany mostrou em seu trabalho²³ que o aumento na quantidade de deutério nos isômeros da cafeína leva a um aumento na polaridade e a uma pequena diminuição na lipofilicidade dessas moléculas.

Em um trabalho utilizando a calorimetria, os pesquisadores determinaram parâmetros termodinâmicos para a cafeína e seus isômeros deuterados.¹⁶ As temperaturas de fusão para a cafeína-1-CD₃, cafeína-3CD₃, cafeína-7-CD₃ e cafeína-1,7-(CD₃)₂ foram menores do que a da cafeína, indicando menor auto-associação, provavelmente via ligação de hidrogênio, entre moléculas nas formas cristalinas desses compostos. Entretanto as temperaturas de fusão para a cafeína-1,3-(CD₃)₂, cafeína-3,7-(CD₃)₂ e cafeína-1,3,7-(CD₃)₃ foram de 0,4 a 1,7°C maiores do que para a cafeína, sugerindo um grau maior de união por ligação de hidrogênio nas formas cristalinas daqueles compostos.

Com relação ao efeito do solvente, o termo *efeito isotópico do solvente* é usado para descrever mudanças produzidas em uma propriedade pela substituição de um solvente deuterado pela sua forma não deuterada. Uma questão de muito interesse dos químicos é o efeito sobre as velocidades e os equilíbrios de reação quando a água é substituída por D₂O como meio reacional. Em geral, diversas propriedades físicas da água e da água deuterada são comparadas levando-se em conta uma norma prática geral: D₂O é mais estruturada que H₂O a temperaturas entre 0 e 35°C.²⁴

Nemethy e Scheraga^{25,26} estudaram os efeitos de não eletrólitos sobre a estrutura da água e o efeito isotópico do solvente sobre as propriedades termodinâmicas de transferência de água para D₂O. A maior capacidade de formação de estrutura na água deuterada, produzida por não eletrólitos, foi atribuída por eles a uma força ligeiramente maior das ligações —O—D - - -O em comparação com as ligações —O—H - - -O. Como a água pesada tem uma maior propensão para formar estrutura, não é surpresa que um soluto não polar seja capaz de induzir um efeito de formação de estrutura maior nesse meio do que na água comum.

Existem poucos dados sustentando diretamente a suposição de que a ligação de deutério em D₂O seja mais forte do que a ligação de hidrogênio em H₂O. Uma comparação direta da habilidade doadora do grupo —O—D versus —O—H foi feita por West, conforme comentado por Coetzee.²⁴ West descobriu que o fenol-*d* interage cerca de 0,3 kcal/mol mais exotermicamente do que o fenol com benzeno, acetato de etila, tetraidrofurano e éter-di-*n*-butilico. Seus resultados são confiáveis, pois há uma boa concordância geral entre os calores e as energias livres relatadas por ele e as encontradas por outros pesquisadores. O estudo calorimétrico de Benjamin e Benson, comparando o calor em excesso da mistura de metanol deuterado e de metanol não deuterado com água, indicou que naquele sistema as ligações de deutério são mais fortes do que as correspondentes de hidrogênio nesse sistema.²⁷

A natureza da ligação de hidrogênio é assunto de discussão não só nos diferentes solventes onde ela aparece, mas também na própria água. Um recente

trabalho (Figura 2) investiga a natureza das ligações de hidrogênio na água, através de um estudo de raios-X com cristais de gelo. Com os resultados desse estudo, fortes evidências da natureza covalente das ligações de hidrogênio na água foram obtidas.²⁸

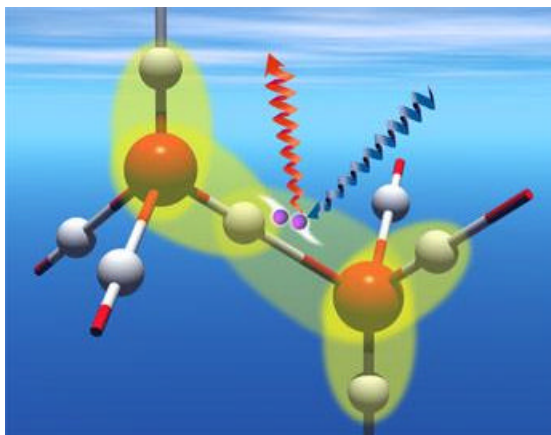


Figura 2- Experimentos recentes têm obtido novas revelações sobre a ligação de hidrogênio, através da irradiação de raios-X com energia conhecida (representado pela seta azul) sobre um cristal de gelo e da análise da energia e da direção dos raios-X (representado pela seta vermelha) que emerge do gelo.²⁸

Uma questão importante é que enquanto não houver uma teoria completa que explique satisfatoriamente as ligações de hidrogênio na água, dificilmente haverá uma teoria completa para as ligações de deutério em D₂O.

1.1.2-Interações solvofóbicas

Os hidrocarbonetos são extremamente pouco solúveis em água. Conseqüentemente, a dissolução de um hidrocarboneto em água geralmente está associada a um aumento na energia de Gibbs G do sistema ($\Delta G > 0$). Sendo conhecido experimentalmente que a dissolução de um hidrocarboneto em água é exotérmica ($\Delta H < 0$), segue-se a partir de $\Delta G = \Delta H - T\Delta S$ que a entropia do sistema deve diminuir. Isto pode ser interpretado como uma consequência da estrutura altamente ordenada das moléculas de água ao redor do hidrocarboneto dissolvido. As moléculas de água estão mais compactadas ao redor das moléculas

do hidrocarboneto dissolvido do que na água pura, o que leva a um aumento da estrutura do meio.⁵

Consideremos agora um segundo caso. Se soluções aquosas de dois hidrocarbonetos são misturadas, os dois hidrocarbonetos podem formar um agregado com reconstrução parcial simultânea da estrutura original da água não perturbada (Figura 3). Devido ao contato entre A e B, poucas moléculas de água

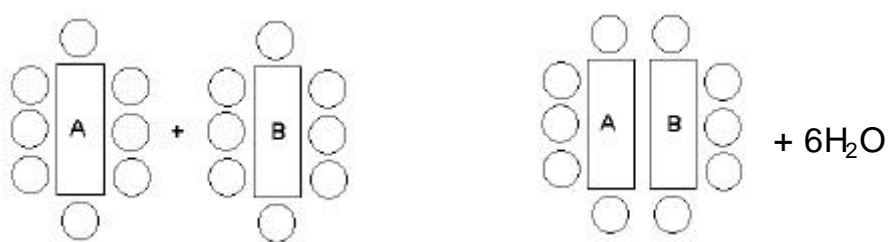


Figura 3 – Formação da interação hidrofóbica de duas moléculas de hidrocarboneto A e B (os círculos representam as moléculas de água).²⁹

estão agora em contato direto com as moléculas de hidrocarboneto. Assim, a influência organizadora das moléculas hidrofóbicas irá diminuir e a entropia irá aumentar ($\Delta S > 0$). Embora seja requerida energia térmica para a desestruturação das camadas de hidratação ao redor de A e da camada ao redor de B ($\Delta H > 0$), a energia livre diminui após a agregação ($\Delta G < 0$). Desta forma, é energeticamente vantajoso para moléculas apolares ou grupos apolares em moléculas grandes na água, agregarem-se com a expulsão de moléculas de água da camada de hidratação. Este fenômeno é conhecido como *interação hidrofóbica*. Esta expressão reflete a desvantagem termodinâmica de um contato direto entre grupos hidrofóbicos e hidrofílicos (por exemplo, o lado alquílico da cadeia em uma proteína com moléculas de água). O sistema escapa desta condição construindo cavidades para abrigar os grupos hidrofóbicos.⁵

Esta interação hidrofóbica pode ser ilustrada considerando-se os parâmetros termodinâmicos mostrados na Tabela 2 para a dissolução do

hidrocarboneto apolar metano em cicloexano (um solvente apolar não associado) e em água (um solvente polar, fortemente associado).³⁰

Tabela 2- Parâmetros termodinâmicos para a dissolução de metano em água e em cicloexano

Solventes	$\Delta G_s^\circ / (\text{kJ mol}^{-1})$	$\Delta H_s^\circ / (\text{kJ mol}^{-1})$	$\Delta S_s^\circ / (\text{J mol}^{-1} \text{K}^{-1})$
Água	26,4	-13,8	-134
Cicloexano	14,2	-2,5	-54

A energia de Gibbs desfavorável ($\Delta G_s^\circ \gg 0$) para a dissolução do metano em água é um resultado da forte entropia de solução negativa ($\Delta S_s^\circ \ll 0$) a qual prevalece sobre a contribuição entálpica favorável ($\Delta H_s^\circ \ll 0$). A entalpia e a entropia negativa da transferência do metano do cicloexano para a água pode ser interpretada em termos de um aumento no grau de ligação de hidrogênio entre as moléculas de água na camada de solvatação ao redor da molécula do soluto apolar.⁵ Este efeito hidrofóbico foi primeiramente postulado por Frank e Evans.³¹ Eles escreveram: "a natureza do desvio encontrado para um soluto não polar em água leva à idéia de que a água forma pedaços congelados ou icebergs microscópicos ao redor das moléculas de tal soluto, nos quais as moléculas de água são mantidas juntas em algum tipo de estrutura aparentemente sólida".

Em princípio, tais interações também podem ser aplicadas a outros solventes semelhantes à água, e desta maneira o termo mais geral *interações solvofóbicas* foi proposto.³²

Embora seja amplamente aceito que as interações hidrofóbicas sejam determinadas por fatores entrópicos, esta visão clássica precisa ser modificada devido a algumas descobertas posteriores.³³⁻³⁵ Contrário ao que foi mostrado anteriormente, parece que a principal contribuição para a interação hidrofóbica entre os grupos metilenos de *n*-alcanos é um efeito entálpico e não entrópico.³⁵ Conseqüentemente, a baixa solubilidade de solutos não polares em água deve-se à entalpia desfavorável e não à entropia desfavorável.³⁴

1.2- Sondas moleculares

Entre as metodologias utilizadas para se estudar as interações intermoleculares em fase líquida encontra-se a utilização das *sondas moleculares*. Estas sondas são moléculas que exibem características espectroscópicas diferentes dependendo das propriedades do meio solubilizante. Assim, o aparecimento de novas bandas espectrais, o deslocamento no comprimento de onda de absorção e/ou de emissão e as mudanças na intensidade de emissão fornecem uma indicação do microambiente ao redor da sonda.

Um grande número de sondas moleculares tem sido usado nos últimos anos para a determinação experimental da polaridade dos solventes. Além desta aplicação, diversas outras vão surgindo com o avanço das pesquisas nestas áreas. As sondas moleculares têm sido usadas para detectar e medir a concentração de proteínas, de ácidos nucleicos, de membranas celulares e de íons de importância biológica, tais como o cálcio (Ca^{2+}), o potássio (K^+) e vários cátions de metais pesados.⁶

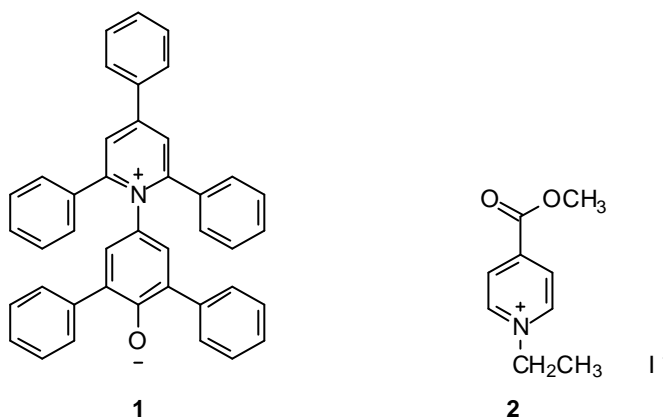
1.2.1- Corantes solvatocrômicos

O termo solvatocromismo é usado para descrever a mudança pronunciada na posição (e às vezes na intensidade) de uma banda de absorção UV-VIS, acompanhada por uma mudança na polaridade do meio. Um deslocamento hipsocrômico (ou deslocamento para o azul) com o aumento da polaridade do solvente é geralmente chamado de solvatocromismo negativo. O deslocamento batocrômico correspondente (ou deslocamento para o vermelho) recebe a denominação de solvatocromismo positivo. O efeito do solvente sobre os espectros de transições eletrônicas é principalmente dependente do cromóforo e da natureza da transição. Entre as transições eletrônicas de maior interesse nos estudos de solvatocromismo encontram-se as seguintes: $\sigma \rightarrow \sigma^*$, $n \rightarrow \sigma^*$, $\pi \rightarrow \pi^*$, $n \rightarrow \pi^*$ e de absorção devida à transferência de carga.⁵

As mudanças solvatocrômicas resultam de interações intermoleculares soluto-solvente, as quais geralmente envolvem alterações no estado eletrônico fundamental ou também podem envolver o estado excitado de espécies que absorvem energia.

Os compostos que apresentam solvatocromismo costumam ser chamados de corantes (ou indicadores) solvatocrômicos e alguns deles são amplamente usados como sondas moleculares.

O indicador solvatocrômico mais popular é o 2,6-difenil-4-(2,4,6-trifenil-1-piridínio)-1-fenolato (**1**), proposto por Reichardt e colaboradores⁵ para medir a polaridade de solventes.



O amplo deslocamento induzido pelo solvente da banda de absorção $\pi \rightarrow \pi^*$ de transferência de carga intramolecular do composto **1**, foi usado para introduzir um parâmetro empírico de polaridade de solvente, o chamado parâmetro $E_T(30)$.

O parâmetro $E_T(30)$ é definido como a energia de excitação (kcal mol^{-1}) do corante **1** em um solvente particular, a qual pode ser calculada a partir do número de onda do máximo da banda larga de absorção (n), de acordo com a equação 2.

$$E_T(30) = hc n N_A = 2,8591 \times 10^{-3} n (\text{cm}^{-1}) = 28591 / \lambda_{\text{máx.}} (\text{nm}) \quad (\text{equação 2})$$

Tem-se utilizado preferencialmente no lugar dos valores de $E_T(30)$, o parâmetro E_T^N , que usa o tetrametilsilano (TMS), $E_T^N = 0$, e a água, $E_T^N = 1$, como os solventes dos extremos de referência, conforme a equação 3.³⁶

$$E_T^N = \frac{E_T(\text{solvente}) - E_T(\text{TMS})}{E_T(\text{água}) - E_T(\text{TMS})} = \frac{E_T(\text{solvente}) - 30,7}{32,4} \quad (\text{equação 3})$$

Nos últimos 30 anos, numerosas escalas de polaridade têm sido propostas. As escalas baseadas em um único parâmetro de entrada incluem $E_T(30)$ de Reichardt e Dimroth, σ_R de Brooker, Z de Kosower e \mathbf{p}^* de Kamlet e Taft entre outras. Estas escalas são baseadas na absorção espectral de um único corante indicador. A escala Z de Kosower, por exemplo, foi montada a partir dos máximos de absorção da banda de transferência de carga para o iodeto de 1-etil-4-metoxycarbonilpiridínio (composto **2**).³⁷

Além das escalas com um parâmetro, inúmeras equações de correlação multiparamétrica, usando parâmetros experimentais próprios já foram descritas. Como exemplo, destacam-se a equação de Koppel e Palm (parâmetros Y , P , B e E) e a equação de Kamlet e Taft (parâmetros \mathbf{p}^* , \mathbf{a} e \mathbf{b}).^{5,6} A escala de polaridade mais popularizada de Kamlet-Taft tem sido baseada em uma equação (equação de Kamlet-Taft) que combina três propriedades do solvente independentes entre si (equação 4). De acordo com esta equação, XYZ representa a propriedade do soluto que pode ser, por exemplo, uma constante de velocidade ou de equilíbrio

$$XYZ = (XYZ)_0 + s(\mathbf{p}^* + d\mathbf{d}) + a\mathbf{a} + b\mathbf{b} \quad (\text{equação 4})$$

bem como um valor espectroscópico; $(XYZ)_0$ é o valor desta propriedade em cicloexano como solvente de referência; \mathbf{p}^* é um índice da dipolaridade/polarizabilidade do solvente e mede a habilidade do solvente para estabilizar cargas de dipolos por meio de seu efeito dielétrico; \mathbf{a} é uma medida do poder doador de próton (acidez) e \mathbf{b} do poder receptor de próton (basicidade) do

solvente; d é um termo de correção da polarizabilidade de acordo com a classe do solvente; s , d , a e b são os coeficientes de regressão que medem a susceptibilidade relativa da propriedade XYZ do soluto aos parâmetros indicados do solvente. A equação multiparamétrica de Kamlet e Taft tem sido considerada uma das mais bem sucedidas para tratamentos quantitativos dos efeitos do solvente.³⁸

1.2.2- Sondas solvatofluorescentes

A fluorescência se distingue dentre as técnicas ópticas usadas para investigar as moléculas pelo fato de o tempo de vida do estado excitado ser suficientemente grande para que uma variedade de interações químicas e físicas possa ocorrer antes da emissão. Estas incluem o movimento rotacional, a reorientação do solvente, a formação de complexo, a transferência de próton e a transferência da energia do estado excitado para outro cromóforo.³⁹

Considerando-se que o tempo necessário para uma molécula adquirir um estado eletronicamente excitado (cerca de 10^{-15} s) é muito menor do que o tempo necessário para realizar vibrações ou rotações (cerca de 10^{-12} a 10^{-10} s), o núcleo da entidade absorvente (por exemplo, a molécula absorvente juntamente com a camada de solvatação) não altera apreciavelmente as suas posições durante uma transição eletrônica (princípio de Franck-Condon). Portanto, o primeiro estado excitado de uma molécula em solução tem o mesmo padrão de solvatação que o estado fundamental correspondente e é chamado de estado excitado de Franck-Condon (S'_1 na Figura 4), enquanto o estado fundamental corresponde a um estado fundamental de equilíbrio (S_0). Se o tempo de vida da molécula excitada é grande o bastante, então a reorientação das moléculas do solvente pode ocorrer resultando um estado excitado relaxado (S_1). É a partir deste estado excitado de equilíbrio que a fluorescência pode ocorrer. Por analogia, existe um estado fundamental (S'_0) de Franck-Condon após a emissão (possuindo o modelo de solvatação do estado excitado de equilíbrio), o qual persiste brevemente até que as moléculas do solvente se reorganizem ao estado fundamental de equilíbrio

(S_0). A solvatação diferencial desses dois estados é responsável pela influência do solvente sobre o espectro de emissão ou de fluorescência.

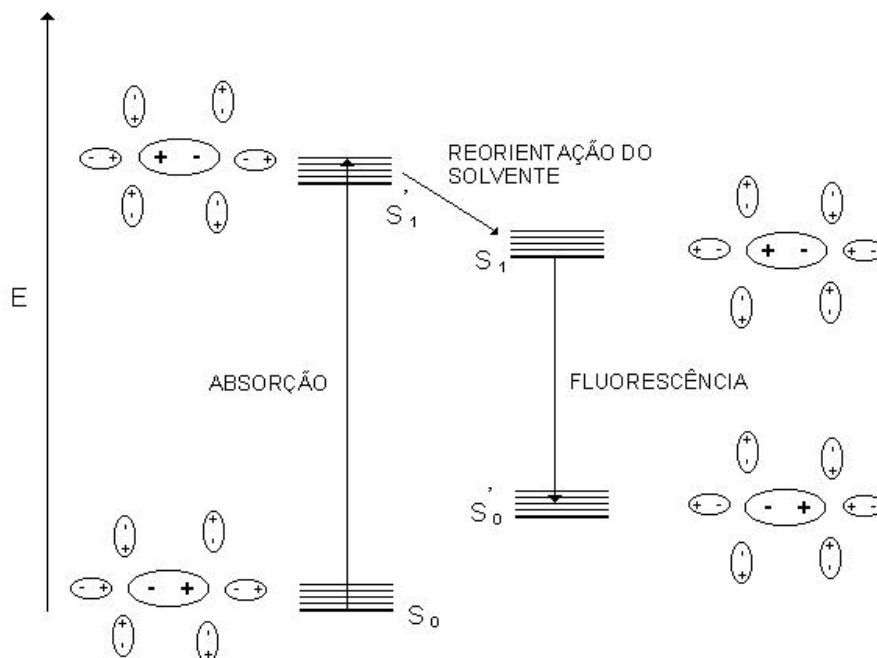


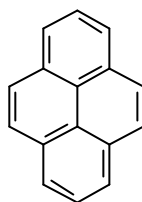
Figura 4 – Esquema de reorientação do solvente na camada de solvatação de um soluto de acordo com o princípio de Franck-Condon.⁵

O fato de a posição das bandas de emissão no espectro de fluorescência depender do solvente tem sido incluído no termo solvatocromismo. Algumas vezes, essa dependência tem sido chamada solvatofluorocromismo ou fluorossolvatocromismo.³⁸ As substâncias que apresentam solvatofluorocromismo ou fluorossolvatocromismo são chamadas de corantes ou indicadores solvatofluorocrômicos ou fluorossolvatocrômicos.³⁸

O termo sonda solvatofluorescente ou simplesmente sonda fluorescente também tem sido usado para estas substâncias já que elas podem fornecer informações do meio em que se encontram. Uma definição para sonda fluorescente geralmente adotada em estudos com macromoléculas é: "pequenas moléculas que sofrem mudanças em uma ou mais de suas propriedades

fluorescentes como um resultado de interações não covalentes com uma macromolécula”.³⁹

Um exemplo particular bem estudado, onde o espectro de fluorescência é influenciado pelo solvente, é o caso do pireno (**3**). Foi relatado pela primeira vez por Nakajima⁴⁰ e posteriormente usado por Kalyanasundaram e Thomas⁴¹ e por Winnik e colaboradores⁴² para a introdução de um parâmetro empírico de polaridade do solvente, a chamada escala **Py**.



3

O espectro de emissão $\pi^* \rightarrow \pi$ do monômero do pireno exibe cinco bandas vibrônicas principais bem resolvidas (figura 5) entre 370 e 400 nm, chamadas *I...V* em ordem progressiva (a banda $0 \rightarrow 0$ é chamada de *I*, e assim por diante).

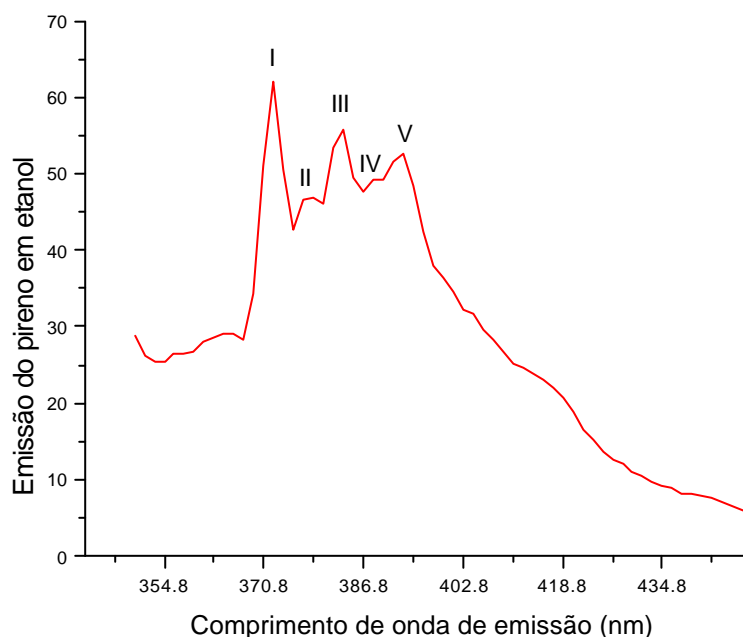


Figura 5 – Espectro de fluorescência do pireno em etanol.

O pico I (banda $0 \rightarrow 0$) mostra um aumento significativo de intensidade com o aumento da polaridade do solvente comparado com o pico III (banda $0 \rightarrow 2$). Assim, a razão das intensidades de emissão das bandas vibrônicas I e III servem como uma medida quantitativa da polaridade do solvente ($P_y = I / III$) embora ela seja difícil de ser determinada com exatidão. O mecanismo exato de como os solventes polares aumentam a intensidade das transições vibrônicas proibidas por simetria por meio de uma redução na simetria local ainda hoje não é completamente compreendido.⁴²

1.3 - Solvatação

O termo solvatação se refere ao envolvimento de cada molécula ou íon por uma camada de moléculas do solvente firmemente ligadas em maior ou menor grau. Esta camada de solvatação é o resultado de forças intermoleculares entre o soluto e o solvente. A energia de solvatação é considerada como sendo a mudança na energia de Gibbs quando um íon ou molécula é transferida do vácuo (ou da fase gasosa) para um solvente. A energia de Gibbs de solvatação, (ΔG_{sol}^0), uma medida da habilidade de solvatação de um solvente particular, é o resultado de uma sobreposição de quatro componentes principais de natureza diferente:

(a) a energia relacionada às cavidades no solvente que são produzidas por moléculas ou íons dissolvidos;

(b) a energia de orientação correspondente ao fenômeno de orientação parcial das moléculas dipolares do solvente causadas pela presença das moléculas ou íons solvatados;

(c) a energia de interação isotrópica correspondente a forças intermoleculares não específicas com um grande raio de atividade, como por exemplo as eletrostáticas e de polarização;

(d) a energia de interação anisotrópica resultante da formação específica de ligações de hidrogênio ou ligações doadoras/receptoras de par de elétrons em pontos bem localizados nas moléculas dissolvidas.⁵

Os três aspectos seguintes também são de importância na solvatação: a estequiometria dos complexos de solvatação (normalmente descrita pelo número de solvatação ou de coordenação), a labilidade dos complexos de solvatação (geralmente descrita pela velocidade de troca das moléculas da camada de solvatação com aquelas do solvente como um todo), bem como a estrutura da camada de solvatação.

O número de coordenação é definido como o número de moléculas de solvente na primeira esfera de coordenação de um íon em solução. Este tipo de solvatação às vezes é chamado de solvatação primária ou química. Os números de coordenação, determinados por diferentes técnicas experimentais,⁴³ variam na água de aproximadamente 4 para o Be^{2+} até aproximadamente 9 para o Th^{4+} , embora a maioria dos valores estejam próximos de 6 (como por exemplo para o Al^{3+}).

O número de solvatação é definido como o número de moléculas do solvente que permanecem próximas a um dado íon, mas suficientemente distantes para “sentir” os movimentos translacionais deste íon. O número de solvatação depende do íon de referência e do número de solvatação que é assumido para este íon, bem como do método de medida. Dependendo do método de medida, as moléculas de solvente imprecisamente ligadas à segunda camada de solvatação ou em camadas posteriores são incluídas. O ordenamento parcial de moléculas de solventes mais distantes, além da camada de solvatação primária, é chamado de solvatação secundária ou física. Por exemplo, medidas de mobilidade indicam o número de moléculas de solvente se movendo com o íon, enquanto medidas dielétricas indicam somente o número de moléculas de solvente na primeira esfera. O número de solvatação do Li^+ na água, determinado usando diferentes métodos de transferência eletrolítica, varia portanto de 5 a 23.⁴⁴

Diversos modelos foram desenvolvidos para descrever a estrutura da camada de solvatação de íons e moléculas. Enquanto a concordância com os achados experimentais pode ser considerada mais ou menos satisfatória, ela é na maioria das vezes apenas qualitativa. De acordo com a influência do soluto sobre

a estrutura do solvente, dois tipos diferentes de solvatação podem ser distinguidos (Figura 6).⁴⁵

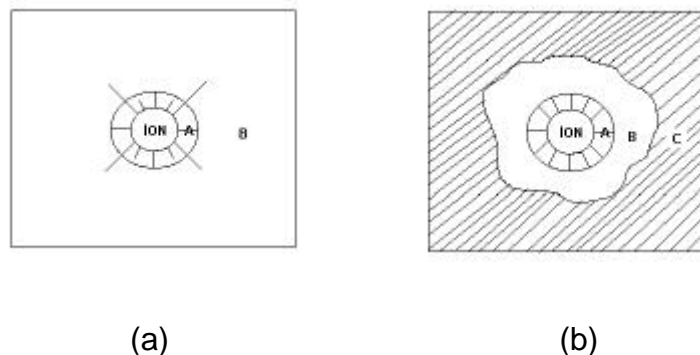


Figura 6 – Representação de modelos multizonas para a solvatação de íons em solventes: (a) com baixo grau de ordem como hidrocarbonetos, consistindo de uma camada de solvatação A e do solvente totalmente desordenado B; (b) em solventes altamente ordenados, tais como a água, consistindo de uma camada de solvatação A com moléculas de solvente imobilizadas, seguida por uma região B de estruturas rompidas e o solvente totalmente ordenado C.

As propriedades direcionais do íon dissolvido dominam em uma região preferivelmente ampla ao redor do centro e diminui gradualmente, procedendo em direção ao solvente não perturbado como um todo. A solução consiste de uma esfera ordenada – a camada de solvatação primária A – e do solvente desordenado B (Figura 6a).

No outro caso, o solvente possui uma estrutura altamente ordenada, tal como a encontrada na água. É possível fazer distinção entre três diferentes regiões no solvente circundando o soluto. Na primeira esfera de coordenação A, as moléculas do solvente estão fortemente unidas ao íon e assim parecem menos móveis do que as moléculas no solvente como um todo. A alguma distância do íon existe a estrutura normal do solvente puro ordenado C. Entre A e C situa-se uma região intermediária B não ordenada composta por moléculas do solvente altamente móveis. Esta foi introduzida a fim de explicar a capacidade que certos íons possuem para formar e quebrar estruturas em soluções aquosas.

Em contraste com a forte hidratação positiva ordinária de pequenos íons esféricos que possuem efeito “construtor de estrutura” sobre as moléculas de

solvente, as moléculas de água ao redor de um íon dissolvido são em alguns casos mais móveis do que em água pura. Em outras palavras, a frequência de troca de moléculas de água ao redor dos íons é maior do que em regiões de água pura (região B na Figura 6b). Isto explica a observação experimental de que soluções aquosas de certos sais, tais como o iodeto de potássio, mostram uma fluidez maior do que a água pura à mesma temperatura. Este efeito tem sido chamado de hidratação negativa e está relacionado com a capacidade que grandes íons esféricos (com apenas uma carga) possuem de destruir as estruturas formadas por moléculas de solvente.⁴⁶

A descrição da solvatação de íons e moléculas em misturas de solventes é ainda mais complicada. Além das interações do solvente com o soluto, a interação entre as moléculas dos diferentes solventes representa um importante papel complementar. A descrição das interações soluto-solvente e solvente-solvente torna-se mais complexa devido à possibilidade da *solvatação preferencial*, que será descrita a seguir.

1.3.1 – Solvatação preferencial

As técnicas envolvendo sondas espectroscópicas constituem um meio experimental conveniente para estudar a solvatação preferencial. O método envolve o uso de uma sonda molecular, como por exemplo os compostos **1-3**, que exibem características espectroscópicas diferentes dependendo das propriedades do meio solubilizante. A sonda se liga seletivamente a uma região específica da superfície, se particiona em uma estrutura organizada, ou é preferencialmente solvatada por um dos solventes que compõem uma mistura.⁴⁷

A solvatação preferencial ocorre quando o soluto tem em seu microambiente maior quantidade de um solvente do que do outro, em comparação com a composição total.^{47,48} Este fenômeno é responsável por grandes desvios do comportamento ideal. Na Figura 7, podemos verificar um exemplo. Ao se observar a variação da energia de transição, E_T , de um corante solvatocrômico em função da variação da fração em mol de um dos componentes de uma mistura binária de

solventes, poder-se-ia esperar um comportamento ideal caso a composição da esfera de solvatação do corante fosse igual à composição total da mistura de solventes. Neste caso o valor de E_T seria linearmente proporcional à composição da mistura binária, sendo esta situação representada na figura pela linha pontilhada. No entanto, esta correlação linear não se observa quando existe a

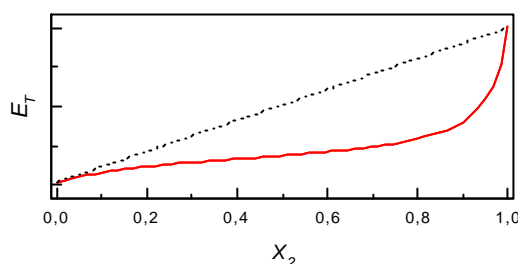


Figura 7 - Variação da energia de transição (E_T) de um corante solvatocrômico genérico em função da variação da fração em mol de um dos componentes em uma mistura binária de solventes. Exemplo de ocorrência da solvatação preferencial

ocorrência da solvatação preferencial. Neste caso a curva obtida (representada pela linha vermelha) demonstra claramente o desvio do comportamento ideal e uma simples análise visual da curva permite obter algumas conclusões sobre o fenômeno em questão.

No exemplo da Figura 7, cada ponto na curva partindo de $X_2=0$ até $X_2=1$ representa uma mistura binária de solventes com uma composição do solvente 2 sempre crescente. É possível observar que o valor de E_T para o solvente 1 puro ($X_2=0$) se mantém praticamente constante até a região de misturas com uma composição (em fração em mol) do solvente 2 de aproximadamente 0,8 ($X_2=0,8$). Como a característica da sonda é justamente apresentar uma variação no valor de E_T em função da composição em sua esfera de solvatação, é possível concluir que nas misturas com uma composição de até $X_2=0,8$ a esfera de solvatação é composta principalmente pelo solvente 1, ou seja a sonda está preferencialmente solvatada por este solvente. Para valores maiores do que $X_2=0,8$ a curva começa a apresentar uma inclinação crescente mais acentuada (valores crescentes de E_T) o que permite concluir que a sonda passa gradativamente a ter uma composição

maior do solvente 2 em sua esfera de solvatação. Esta interpretação só é possível na ausência do fenômeno da sinergia.

O fenômeno da sinergia é decorrente da existência das interações solvente-solvente.^{47,48} Em uma mistura binária de solventes, por exemplo, este termo refere-se ao fato de a ação dos dois solventes participantes da mistura fornecer um efeito inexistente nos componentes individuais. O efeito sinérgico é bem estabelecido na literatura para a solvatação preferencial do piridiniofenolato **1** em misturas de solventes^{6,49-55} e foi também observado recentemente em um estudo de solvatação preferencial envolvendo um corante iminoanilínico.⁵⁶ Um exemplo sobre a observação deste fenômeno pode ser visto na Figura 8, onde está representada a variação da energia de transição (E_T) de um corante solvatocrômico, em função da variação da fração em mol de um dos componentes de uma mistura binária de solventes. Aqui, o fenômeno de sinergia pode ser entendido como a ocorrência de valores no eixo Y (no caso, E_T , na Figura 8) maiores (ou menores) do que os valores observados para os dois solventes puros.

Assim como no exemplo anterior, o comportamento ideal é representado pela linha pontilhada. A curva representada pela linha vermelha também permite concluir, neste caso, que existe um desvio do comportamento ideal devido à ocorrência da solvatação preferencial. No presente caso, porém, não é possível concluir através da análise visual se a sonda está sendo preferencialmente solvatada pelo solvente 1 ou 2. Isto porque o aparecimento do fenômeno da sinergia leva à formação de outras estruturas com características próprias. Neste caso, conhecendo as características físico-químicas da sonda e de cada solvente puro da mistura, é possível através da análise visual obter algumas informações sobre as estruturas formadas pela interação dos dois solventes referentes, por exemplo, à polaridade dessa estrutura, aos tipos de interações envolvidas na sua formação e à intensidade dessas interações.

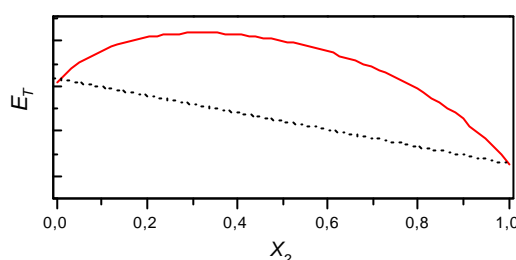


Figura 8 - Variação da energia de transição (E_T) de um corante solvatocrômico genérico em função da variação da fração em mol de um dos componentes em uma mistura binária de solventes. Exemplo de ocorrência da solvatação preferencial com presença de sinergia.

A solvatação preferencial ocorre com frequência e, devido ao fato de ela modificar as vizinhanças do soluto, ela afeta a sua conformação e reatividade.⁵⁷ A solvatação preferencial é o parâmetro mais relevante que reflete a interação solvente-proteína, e, portanto, pode ser usada como uma ferramenta básica para associar as propriedades termodinâmicas da estrutura de proteínas em uma mistura de solventes com propriedades físicas intrínsecas dos componentes da solução. Ela é uma medida puramente termodinâmica da afinidade relativa que uma superfície solvatada apresenta pelos componentes da solução. A solvatação preferencial depende da natureza de uma superfície solvatada e, portanto, no caso das proteínas, depende da conformação. A mudança da solvatação preferencial devida ao desenovelamento da proteína é o parâmetro principal caracterizando a estabilidade da estrutura nativa da proteína em misturas de água com outro solvente. Na escala molecular, a mudança na desnaturação causada pela solvatação preferencial de uma proteína se dá pelo número de moléculas de solvente adicionais entrando e saindo da esfera de solvatação da macromolécula capaz de sofrer desnaturação. Esta descrição microscópica é verdadeira quando a concentração do solvente não aquoso adicionado não é alta, do contrário a solvatação preferencial deve incluir uma contribuição dos eventos que ocorrem no solvente como um todo.⁵⁸

Embora a solvatação preferencial tenha sido investigada com uma variedade de métodos (eletroquímico, termodinâmico, UV-VIS, IV e RMN), a

maioria dos estudos têm sido direcionados a soluções eletrolíticas, enquanto que moléculas orgânicas simples têm recebido atenção somente recentemente.⁵⁷

Acree e colaboradores investigaram, através de um método espectrofluorométrico desenvolvido, a solvatação preferencial de sondas fluorescentes dissolvidas em algumas misturas binárias de solventes. O método utilizado considera que a esfera de solvatação preferencial ao redor de cada fluoróforo é formada por somente um tipo de solvente. Expressões derivadas a partir do modelo foram ilustradas usando-se o comportamento de emissão de fluorescência observada do pireno, benzo[e]pireno, benzo[ghi]perileno e coroneno dissolvidos nas misturas binárias *n*-heptano + 1,4 dioxano, *n*-heptano + tetraidrofurano, metanol + acetonitrila e éter *n*-butílico + acetonitrila.⁴⁷

Kusumoto e colaboradores⁵⁹ empregaram o pireno na investigação da *SP* em misturas de água com álcoois. Seus resultados indicaram que as moléculas de álcoois solvatam preferencialmente o pireno em água e que o grau da solvatação preferencial aumenta com o aumento na extensão da interação hidrofóbica do pireno com os álcoois.

Rosés e colaboradores⁴⁹⁻⁵³ estudaram a influência das interações soluto-solvente e solvente-solvente na solvatação preferencial de indicadores solvatocrômicos em misturas binárias de solventes. Nesses estudos, os modelos testados assumem que os solventes misturados interagem para formar uma estrutura comum com valor de E_T próprio, nem sempre intermediário entre os solventes que foram misturados. Assim, o indicador solvatocrômico pode ser preferencialmente solvatado por qualquer um dos solventes misturados ou pela estrutura obtida formada pela interação dos dois solventes. Os parâmetros obtidos permitiram explicar a forte sinergia observada para algumas das misturas estudadas que possuíam bons doadores de prótons para formar ligação de hidrogênio (álcoois e clorofórmio).

2- OBJETIVOS E JUSTIFICATIVA

O estudo de sistemas moleculares em fase líquida apresenta grandes desafios. Mesmo que fosse possível compreender um número muito grande de moléculas em interação, ainda restaria um problema fundamental: lidar com o fato de que um líquido não tem uma estrutura, mas um grande número de estruturas possíveis. Por isso, os estudos envolvendo misturas de solventes, apesar de apresentar um maior grau de complexidade devido à maior possibilidade de diferentes interações existentes, podem fornecer informações bastante úteis que ajudam a compreender a relação dessas interações com diversos fenômenos tanto em sistemas biológicos como em sistemas químicos.

O fenômeno da solvatação preferencial é relevante porque permite explicar dados espectroscópicos,^{38,49-53,56,59-82} de equilíbrio^{50,83-85} e cinéticos^{54-55,83,86-90} em misturas de solventes. Desta maneira, é de interesse a busca de sondas capazes de relatar as micro-heterogeneidades existentes no meio e de fornecer evidências sobre a ocorrência e a natureza das interações intermoleculares.

Apesar de o pireno ser extensivamente utilizado como sonda, pouquíssimos trabalhos foram realizados com o uso deste composto para analisar misturas binárias de solventes.^{47,59}

A carência de trabalhos sobre esses estudos e a busca de modelos que expliquem de forma mais satisfatória o fenômeno de solvatação preferencial de uma sonda hidrofóbica justificam a realização do presente trabalho.

São objetivos específicos desta dissertação:

- a) o desenvolvimento e validação de um modelo para o estudo da solvatação preferencial do pireno;
- b) a utilização do pireno como sonda fluorescente para a investigação da natureza de interações intermoleculares em misturas binárias contendo um solvente prótico e outro aprótico;
- c) a utilização do pireno como sonda fluorescente para investigação do efeito isotópico em misturas binárias de solventes.

3- PARTE EXPERIMENTAL

3.1- Materiais

Todos os solventes eram de grau HPLC e foram purificados seguindo-se a metodologia descrita na literatura.⁹¹ Os solventes utilizados foram: metanol, etanol, *iso*-propanol, *n*-butanol, acetonitrila, tetraidrofurano (THF), dimetilsulfóxido (DMSO), *N,N*-dimetilformamida (DMF), (Aldrich, Grupo Química, Vetec, Merck). Foi usada água deionizada em todas as medidas. Este solvente foi fervido e borbulhado com nitrogênio e mantido em atmosfera de nitrogênio para evitar a presença de dióxido de carbono. O óxido de deutério (Aldrich) era de pureza 99,9%. O pireno (Aldrich; >99%) foi recristalizado três vezes do metanol e seco antes do uso.

3.2- Metodologia

A fim de evitar a formação de microcristais de pireno e fenômenos extrínsecos, a concentração da sonda foi fixada em $4 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$. O seguinte procedimento foi validado para todos os experimentos. Uma solução estoque de pireno ($1,25 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) foi preparada em diclorometano. Com uma microseringa, 16 μL desta solução foram transferidas para balões volumétricos de 5 mL. Após a evaporação do diclorometano, a sonda foi solubilizada na mistura de solventes. As misturas binárias foram preparadas pesando-se os solventes com balança analítica e os valores finais foram expressos em termos de fração em mol do cossolvente prático (X_2).

3.2.1- Medidas de fluorescência

Os experimentos de fluorescência foram realizados em um espectrofluorímetro Hitachi F-4500. Todos os espectros de emissão corrigidos foram feitos com soluções aeradas a 25°C, usando uma cubeta de 1cm de

caminho óptico. As amostras foram excitadas a 315 nm, com fenda de excitação e de emissão fixadas em 5,0 e 2,5 nm de largura, respectivamente.

As intensidades de fluorescência das bandas I e III do pireno foram coletadas. Gráficos das razões I/III versus X_2 foram montados para cada uma das misturas binárias. Os conjuntos de dados obtidos foram interpretados à luz de equações matemáticas capazes de descrever o fenômeno da solvatação preferencial e de fornecer evidências para uma explicação das interações intermoleculares entre soluto e solvente e entre solvente e solvente.

3.2.2- Efeito isotópico

Os experimentos de observação do efeito isotópico foram realizados seguindo-se a mesma metodologia descrita para o estudo das demais misturas de solventes. Neste caso, porém, a água foi substituída pelo óxido de deutério nas misturas com DMSO e com DMF.

3.2.3- Métodos de cálculo

Os parâmetros I/III_1 , I/III_2 , I/III_{12} , $f_{2/1}$ e $f_{12/1}$ pertencentes à equação obtida do modelo de solvatação considerado (ver Discussão) foram calculados a partir de uma regressão não linear usando programas específicos.

4– RESULTADOS E DISCUSSÃO

A seguir, são apresentados e discutidos os resultados obtidos nos experimentos.

Inicialmente, são discutidos os resultados obtidos para a fluorescência do pireno nos solventes puros utilizados e estes são comparados com os resultados da literatura. Em seguida são discutidos, com base nas interações intermoleculares envolvidas, os resultados referentes à fluorescência do pireno nas diversas misturas de solventes utilizadas, sendo antes apresentado o modelo de solvatação preferencial desenvolvido para o estudo destas misturas. Por último, discutem-se os resultados referentes ao estudo do efeito isotópico na fluorescência do pireno e como esses resultados fornecem evidências complementares para uma interpretação segura das interações intermoleculares solvente-solvente.

4.1- Estudos envolvendo os solventes puros

Os solventes que foram utilizados neste trabalho para a preparação das misturas binárias podem ser separados em dois grupos. O primeiro grupo compreende os solventes dipolares apróticos, os quais são bons receptores de prótons para formar ligação de hidrogênio (valores altos de ***b***) e fracos doadores de prótons para formar ligação de hidrogênio (valores baixos de ***a***). O outro grupo é formado pelos solventes próticos, os quais apresentam forte capacidade de doar prótons para formar ligação de hidrogênio. As propriedades polaridade e capacidade de formar ligação de hidrogênio desses solventes, representadas pela escala normalizada de polaridade de Reichardt E_T^N [36] e pelos parâmetros de Kamlet-Taft ***a***, ***b*** e ***p***^{*} [92] são apresentadas na Tabela 3. A Tabela 3 apresenta também os valores de I/III para os solventes estudados.

Tabela 3 – Propriedades físicas de alguns solventes próticos e apróticos .

Solvente	ρ^a	α^a	β^a	$E_T^{N^b}$	I/III^c	I/III^d	I/III^e
acetonitrila	0,75	0,19	0,31	0,460	1,63	1,79	1,75
<i>N,N</i> -dimetilformamida	0,88	0,00	0,69	0,400	1,81	1,81	1,82
Apróticos dimetil sulfóxido	1,00	0,00	0,76	0,444	1,88	1,95	1,88
tetraidrofurano	0,58	0,00	0,55	0,207	1,21	1,35	1,22
água	1,09	1,17	0,18	1,000	1,81	1,87	1,59
óxido de deutério	-	-	-	0,991	1,81	-	-
Próticos metanol	0,60	0,93	0,62	0,762	1,30	1,35	1,33
etanol	0,54	0,83	0,77	0,654	1,18	1,18	1,10
<i>iso</i> -Propanol	0,48	0,76	0,95	0,546	1,09	1,08	0,91
<i>n</i> -Butanol	0,47	0,79	0,88	0,602	1,07	1,06	1,02

^a Ref. 92. ^b Ref. 5. ^c Este trabalho. ^d Ref. 42. ^e Ref. 41.

Os valores de I/III obtidos neste trabalho são muito similares àqueles da literatura.^{41,42} Experimentos foram feitos a fim de comparar as amostras aeradas com outras tratadas através do borbulhamento com uma corrente de argônio. Não foi verificada qualquer alteração nas leituras nos dois casos para os solventes puros. As diferenças entre os valores obtidos de I/III para alguns solventes e os valores da literatura, muito provavelmente estão relacionadas aos diversos efeitos estudados por Acree⁹³ que contribuem para os desvios entre os valores de I/III obtidos em diferentes laboratórios. Acree destaca a grande influência do uso de diferentes sistemas de filtros espectrais na variação dos valores de I/III . Ele destaca ainda a importância da utilização de fendas estreitas para a obtenção de valores de I/III corretos, mas não tão estreitas a ponto de aproximar os sinais do ruído, o qual aumenta a imprecisão na determinação desses valores. Por isso, é extremamente recomendado que após a obtenção das melhores condições de trabalho para um determinado conjunto de experimentos que envolvam a determinação de valores de I/III , essas mesmas condições sejam mantidas fixas durante a execução de todos os experimentos até o término dos mesmos. Com

isso, evita-se que fatores experimentais interfiram indevidamente na determinação dos valores. Assim, os dados obtidos podem ser seguramente confrontados entre si, dentro das condições pré-estabelecidas. No conjunto de experimentos descrito neste trabalho, as condições experimentais foram mantidas constantes durante toda a sua execução (ver Parte Experimental).

Analisando os gráficos dos valores de I_{340}/I_{313} versus os valores de Kamlet-Taft (Figuras 9-11) para os solventes usados neste trabalho, podemos verificar uma falha na relação linear, um fato que concorda com a literatura, pois já foi verificado que somente os valores de I_{340}/I_{313} para os solventes alifáticos apróticos e não policlorados se relacionam linearmente com os parâmetros de Kamlet-Taft.⁹⁴

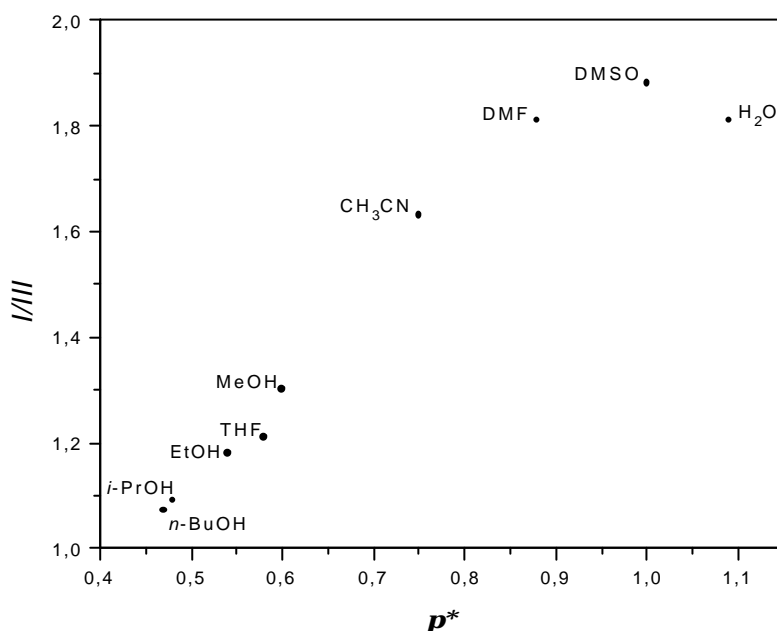


Figura 9- Gráfico da razão das intensidades das bandas de fluorescência do pireno I_{340}/I_{313} versus os valores de p^* para os solventes puros utilizados neste trabalho.

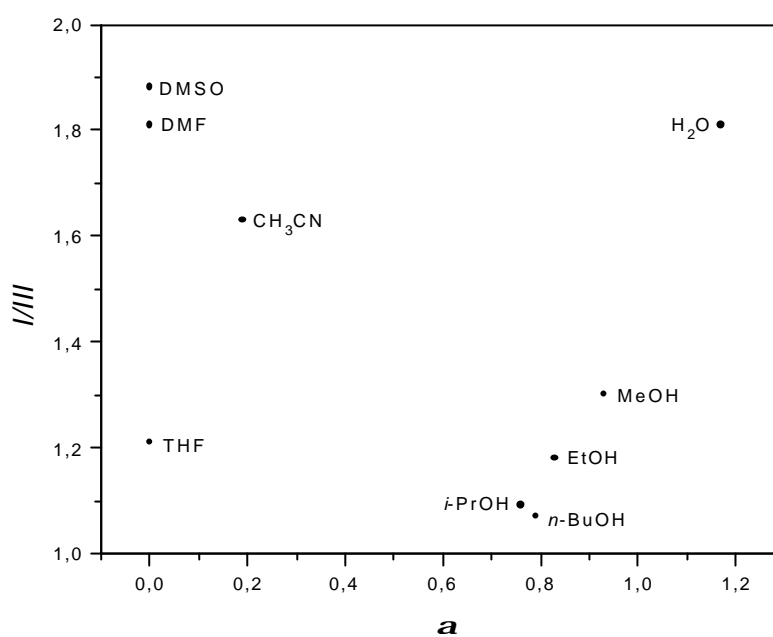


Figura 10- Gráfico da razão das intensidades das bandas de fluorescência do pireno $I//II$ versus os valores de a para os solventes puros utilizados neste trabalho.

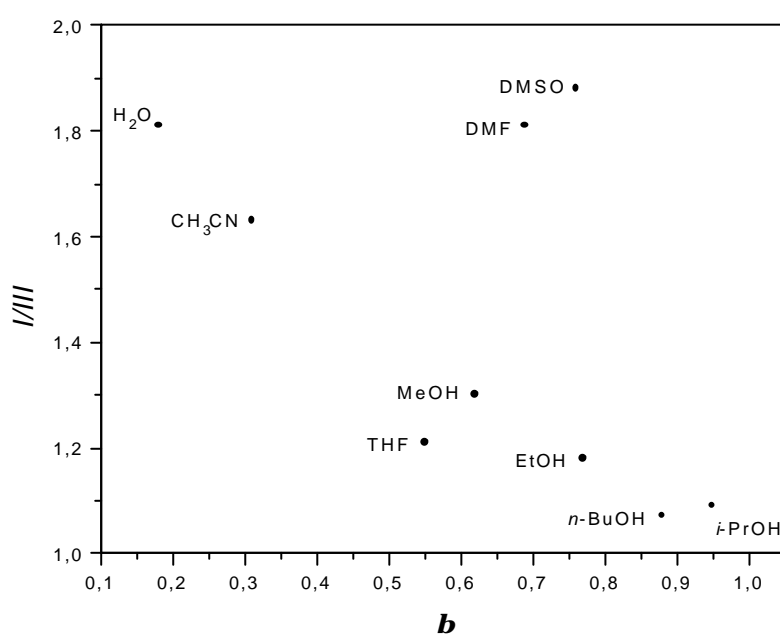


Figura 11- Gráfico da razão das intensidades das bandas de fluorescência do pireno $I//II$ versus os valores de b para os solventes puros utilizados neste trabalho.

Já na Figura 12, ao se comparar os valores de I/III versus E_T^N , é possível observar duas regiões no gráfico com uma boa correlação: a região formada pelos solventes próticos e a formada pelos solventes apróticos.

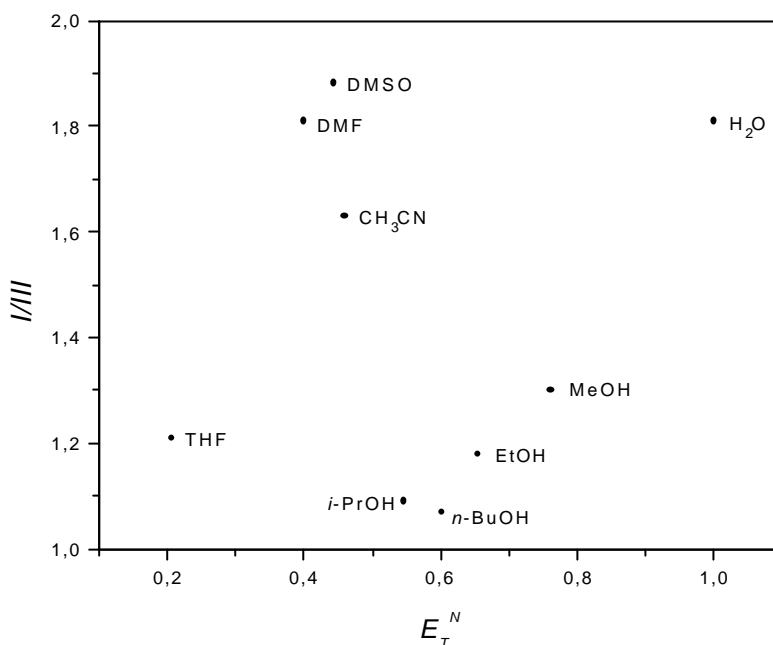


Figura 12- Gráfico da razão das intensidades das bandas de fluorescência do pireno I/III versus os valores de E_T^N para os solventes puros utilizados neste trabalho.

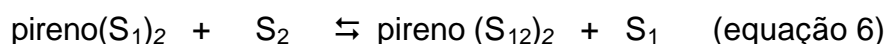
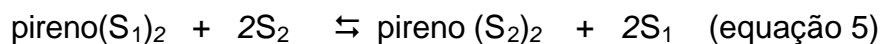
Observa-se que, para os dois grupos de solvente, o aumento de polaridade nos valores de I/III corresponde a um aumento de polaridade na escala E_T^N . Estes dados concordam com aqueles obtidos por Dong e Winnik.⁴² Estes autores fizeram a correlação dos valores de I/III com os valores de E_T para sessenta e dois solventes puros e seus resultados reforçam aqueles de Nakajima⁴⁰ e de Thomas⁴¹ sobre o aumento dos valores de I/III com o aumento da polaridade do solvente. Dong e Winnik⁴² comentam ser esta correlação de extrema importância pelo fato de os valores E_T serem reconhecidos como uma das escalas de polaridade mais facilmente compreendidas. Com isto eles propõem que os valores de I/III sejam usados como uma escala de polaridade do solvente, a escala pireno, ou escala Py , onde $Py = I/III$. Apesar disso, pouco esforço tem sido feito para tornar popular o uso da escala Py , devido ao fato de que diversas tentativas de correlacionar

experimentalmente os valores I/I_0 com outras propriedades do solvente não terem obtido sucesso.^{40,94} Esse é um dos principais motivos pelo qual a grande maioria dos trabalhos envolvendo o pireno, ao invés de utilizá-lo como uma escala de polaridade fiel, utilizam-no como uma sonda para estudos do microambiente, demonstrando ser uma poderosa ferramenta para tal fim.^{41,95-96}

4.2- Estudo do modelo de solvatação preferencial

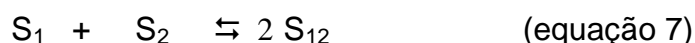
O uso do pireno como uma sonda fluorescente para investigar as interações intermoleculares nas misturas de solventes foi possível graças ao desenvolvimento de um modelo de solvatação preferencial apresentado a seguir.

Todos os dados foram tratados considerando-se um modelo de troca de solventes em duas etapas, de acordo com as equações 5 e 6:



O valor 2, que aparece como coeficiente e como índice após o parênteses, foi o melhor valor encontrado para obter a equação de ajuste das curvas. Este valor indica o número de moléculas de solventes na microesfera de solvatação do pireno e que afetam a sua emissão de fluorescência. Os valores diferentes para o coeficiente definem diferentes modelos com equações próprias (ver Apêndice).

Nesse modelo assume-se que os dois solventes misturados (S_1 e S_2) interagem para formar uma estrutura comum S_{12} com propriedades particulares. Assim o equilíbrio para a formação do solvente " S_{12} misto" pode ser representado de acordo com a equação 7.



O modelo de troca de solventes em duas etapas é originado dos estudos de Skwierczynski e Connors,⁹⁷ e tem se mostrado adequado para explicar a solvatação do piridiniofenóxido **1** em muitas misturas binárias.⁴⁹⁻⁵³ S_1 e S_2 representam o solvente aprótico e o solvente prótico na mistura, respectivamente. Estes dois solventes interagem a fim de fornecer uma estrutura comum S_{12} com propriedades particulares. A sonda solvatada por S_1 , S_2 e S_{12} é representada por pireno(S_1)₂, pireno(S_2)₂ e pireno(S_{12})₂, respectivamente.

Os dois processos mostrados de troca de solvente são definidos pelos parâmetros de solvatação preferencial $f_{2/1}$ e $f_{12/1}$ (equações 8 e 9) os quais medem a tendência de solvatação do pireno pelos solventes S_2 e S_{12} com relação ao solvente S_1 . Nestas equações X_1^L , X_2^L e X_{12}^L representam as frações em mol dos componentes S_1 , S_2 e S_{12} na região cibotática do pireno, respectivamente, e X_1 e X_2 são as frações em mol dos dois solventes na mistura binária total.

$$f_{2/1} = (X_2^L/X_1^L)/(X_2/X_1)^2 \quad (\text{equação 8})$$

$$f_{12/1} = (X_{12}^L/X_1^L)/(X_2/X_1) \quad (\text{equação 9})$$

A razão I/III para uma dada mistura foi considerada igual à média dos valores I/III dos solventes S_1 , S_2 e S_{12} na esfera de solvatação do pireno (equação 10).

$$I/III = X_1^L I/III_1 + X_2^L I/III_2 + X_{12}^L I/III_{12} \quad (\text{equação 10})$$

A aplicação das equações 8 e 9 na equação 10 resulta na equação 11, a qual relaciona a razão I/III do pireno na mistura binária com as razões I/III dos dois solventes puros.

$$I/III = \frac{I/III_1(1 - X_2)^2 + I/III_2 f_{2/1} X_2^2 + I/III_{12} f_{12/1} (1 - X_2) X_2}{(1 - X_2)^2 + f_{2/1} X_2^2 + f_{12/1} (1 - X_2) X_2} \quad (\text{equação 11})$$

4.3- Estudo das Misturas de solventes

Os dados experimentais para cada mistura binária foram ajustados através da equação 11, usando-se o método da regressão não linear. Foram obtidos ajustes excelentes para todas as misturas binárias (*desvio padrão* $< 3 \times 10^{-4}$).

4.3.1- Misturas com acetonitrila

A Figura 12 descreve a variação da razão I/III do pireno como uma função da fração em mol do componente hidroxílico (X_2). O ajuste das curvas através da equação 11 permite obter os parâmetros para cada mistura binária de solventes (Tabela 4).

Tabela 4: Parâmetros das misturas com acetonitrila a 25°C obtidos dos dados experimentais com o uso da equação 11

Mistura binária	I/III_1	I/III_2	I/III_{12}	$f_{2/1}$	$f_{12/1}$	desvio padrão
Acetonitrila-água	1,63	1,81	1,70	0,234	1,28	5×10^{-6}
Acetonitrila-metanol	1,63	1,30	1,45	0,189	0,787	1×10^{-5}
Acetonitrila-etanol	1,63	1,18	1,39	0,110	1,26	2×10^{-5}
Acetonitrila- <i>iso</i> -propanol	1,62	1,09	1,20	0,177	0,689	5×10^{-5}
Acetonitrila- <i>n</i> -butanol	1,63	1,07	1,24	0,196	1,71	5×10^{-5}

Foi observada uma forte solvatação preferencial do pireno pela acetonitrila nas misturas aquosas [Figura 13 (a)]. Tendo-se em vista a habilidade das moléculas de água para se auto-associarem na região rica em água formando redes unidas por ligações de hidrogênio, as moléculas isoladas de acetonitrila podem facilmente solvatar o soluto. Por outro lado, nas misturas ricas em acetonitrila, a acetonitrila ainda é o solvente preferido no microambiente do pireno porque ela é menos polar do que a água.

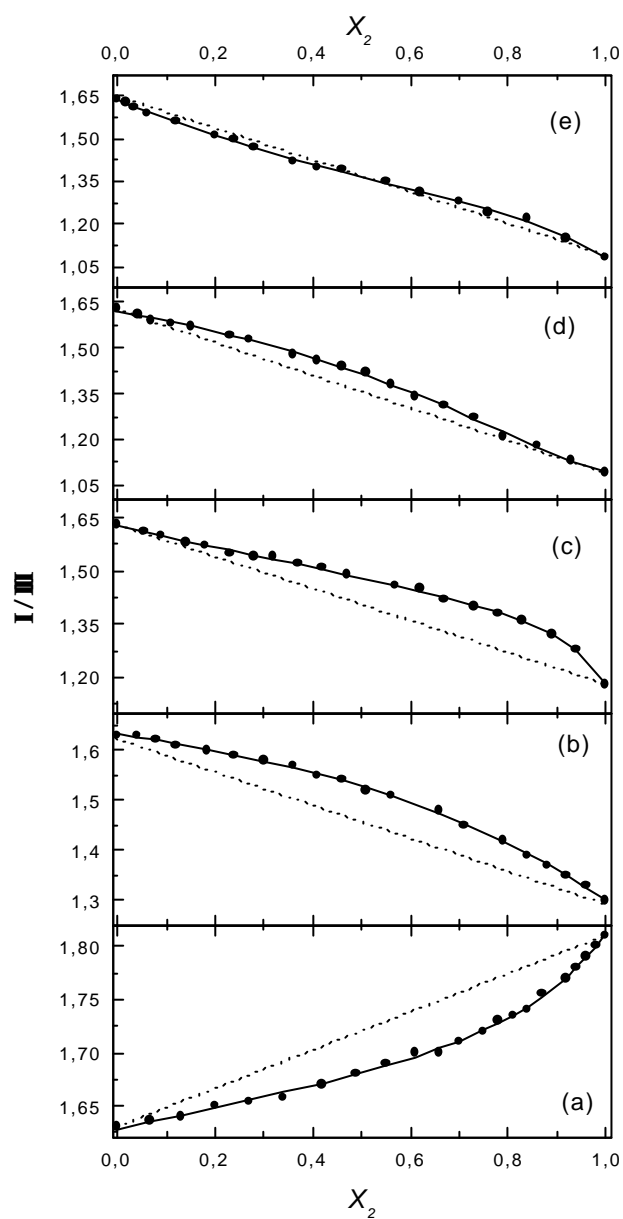


Figura 13 – Influência do cossolvente prótico na razão I/III para as bandas de emissão do pireno em misturas de acetonitrila com ROH, sendo ROH igual à água (a), metanol (b), etanol (c), *iso*-propanol (d) *n*-butanol (e). (.....) Dependência linear teórica sem solvatação preferencial; (—) curva ajustada com a equação 11; (•) resultados experimentais.

Nas misturas de acetonitrila com os álcoois [Figura 13(b)-(e)], o solvente não prótico sempre solvata preferencialmente o soluto. Entretanto, pode ser observado que à medida que o álcool torna-se menos polar, a extensão da solvatação preferencial pela acetonitrila diminui. As misturas binárias aproximam-se de um comportamento quase ideal nas misturas de acetonitrila com *n*-butanol.

Uma maneira simples de analisar estes resultados pode surgir se supomos que as misturas são compostas exclusivamente pelas espécies S_1 e S_2 . Esta aproximação pode ser feita somente porque os efeitos sinérgicos estão ausentes nestas curvas (Figura 13). Assim, a porcentagem molar do componente hidroxílico na camada de solvatação do soluto para uma dada mistura com fração em mol total 1:1 pode ser estimada através da equação 12. De acordo com esta equação, ROH(%) é a porcentagem molar

$$ROH(\%) = (I/III_{0,5} - I/III_{0,0}) / (I/III_{1,0} - I/III_{0,0}) \cdot 100 \quad (\text{equação 12})$$

estimada do componente hidroxílico na mistura. $I/III_{0,0}$, $I/III_{0,5}$ e $I/III_{1,0}$ são os valores de I/III para as frações em mol do solvente prótico iguais a 0,0, 0,5 e 1,0, respectivamente. Nas misturas de acetonitrila com água, somente 29% das moléculas de água estão na região cibotática do soluto em uma mistura contendo 50% de cada um dos componentes da mistura total. A camada de solvatação do pireno pelo cossolvente alcoólico em metanol, etanol e *iso*-propanol nas mesmas

Tabela 5 – Composição percentual de ROH na camada de solvatação do pireno em misturas binárias de acetonitrila com diferentes concentrações de cossolvente prótico

Fração percentual total do cossolvente prótico (%)	% ROH na camada de solvatação do pireno				
	<i>cossolvente</i>				
	água	metanol	etanol	<i>iso</i> -propanol	<i>n</i> - butanol
25	11	12	18	18	28
50	29	31	33	40	48
75	50	59	54	69	69

condições é igual a 31, 33 e 40%, respectivamente. Em contraste, a solvatação pelo álcool é igual a 48% em misturas de acetonitrila com *n*-butanol. Em outras palavras, a solvatação do pireno pelo cossolvente nessas misturas aumenta na ordem: água < metanol < etanol < *iso*-propanol < *n*-butanol (Tabela 5). Embora estes dados devam ser analisados cautelosamente, eles fornecem dados compatíveis com a simples análise visual a partir da Figura 13. Estes resultados podem ser explicados com base no fato de que o pireno é uma sonda bastante hidrofóbica. Assim, a troca do cossolvente prótico mais polar por outro mais hidrofóbico pode levar à uma interação comparativamente mais forte da sonda com o cossolvente por meio de interações hidrofóbicas.

Uma outra maneira de se comparar o grau de solvatação preferencial entre as diferentes misturas é através da determinação da extensão da solvatação preferencial (d_{SP}), definida como $d_{SP} = X_1^L - X_1$, onde d_{SP} é a extensão da solvatação preferencial, X_1^L é a fração em mol local do solvente aprótico e X_1 é a fração em mol total do solvente aprótico. Os valores de X_1^L podem ser determinados através do procedimento de Acree e colaboradores,⁴⁷ com o uso da equação 13, onde I/III

$$I/III = [X_1^L I_1 + (1 - X_1^L) I_2] / [X_1^L III_1 + (1 - X_1^L) III_2] \quad (\text{equação 13})$$

é o valor para a razão do pireno numa determinada mistura binária, I_2 e I_1 , e III_2 e III_1 representam os valores para as intensidades I e III do pireno no solvente prótico puro e no solvente aprótico puro respectivamente. Deve-se observar que esta interpretação de solvatação preferencial é feita exclusivamente em termos da contribuição de S_1 e S_2 , sem a participação da espécie S_{12} , sendo válida somente na ausência de efeitos sinérgicos. Gráficos de d_{SP} como uma função da fração em mol total de acetonitrila com água, etanol e *n*-butanol são mostrados na Figura 14. É possível visualizar que quanto mais hidrofóbico é o cossolvente prótico, menor é a extensão da solvatação preferencial pela acetonitrila, resultado que concorda com os resultados apresentados no parágrafo precedente.

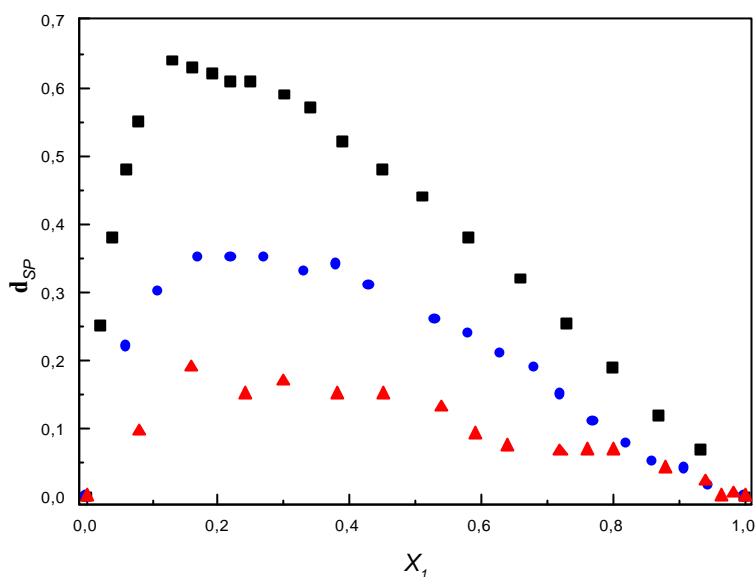


Figura 14. Curvas de δ_{SP} do pireno como uma função da fração em mol total de acetonitrila para misturas de acetonitrila com água (), etanol (●) e *n*-butanol ().

4.3.2- Misturas contendo tetraidrofurano

As variações na razão I/III do pireno como função da fração em mol do componente hidroxílico (X_2) são mostradas na Figura 15. O ajuste das curvas através da equação 11 permite obter os parâmetros para cada mistura binária de solventes (Tabela 6).

Foi observada uma forte solvatação preferencial do pireno pelo THF em suas misturas aquosas [Figura 15(a)]. Este resultado pode ser explicado pelo fato de que na região rica em água, uma forte auto-associação da água ocorre através das ligações de hidrogênio entre as moléculas do solvente. As moléculas livres de THF presentes na mistura são então responsáveis pela solvatação preferencial do pireno. Embora esta estrutura auto-associada seja gradualmente quebrada com a adição de THF, o pireno ainda é preferencialmente solvatado pelo solvente menos polar devido à sua grande afinidade com o soluto hidrofóbico (ver discussão para as misturas de acetonitrila com água).

Dawber e colaboradores⁸⁶ estudaram a solvatação do corante **1** em diferentes misturas binárias de solventes e observaram para as misturas de THF com água um comportamento bifásico, ou seja, nas regiões de alta fração em mol de água, **1** é preferencialmente solvatado pelo componente orgânico enquanto nas misturas de baixa concentração em água **1** é preferencialmente solvatado pela água. Esta diferença entre a solvatação de **1** e o pireno deve-se ao fato da maior afinidade do pireno por solventes hidrofóbicos.

Todas as outras misturas envolvendo THF apresentaram uma particularidade interessante: elas mostraram valores de I/III maiores para as misturas do que para os solventes puros [Figura 15(b)-(e)]. Este comportamento no presente trabalho foi denominado sinérgico no sentido que a ação dos dois solventes participantes da mistura forneceu um efeito inexistente nos componentes individuais (ver Introdução).

Tabela 6- Parâmetros das misturas com tetraidrofurano a 25°C obtidos dos dados experimentais com o uso da equação 11

Mistura binária	I/III_1	I/III_2	I/III_{12}	$f_{2/1}$	$f_{12/1}$	desvio padrão
THF-água	1,21	1,80	1,31	0,210	5,24	3×10^{-4}
THF-metanol	1,21	1,30	1,35	2,50	32,8	1×10^{-5}
THF-etanol	1,21	1,17	1,26	0,590	12,0	1×10^{-4}
THF- <i>iso</i> -propanol	1,21	1,09	1,27	25,6	112	1×10^{-5}
THF- <i>n</i> -butanol	1,21	1,06	1,36	1,73	5,37	5×10^{-5}

É evidente a partir dos resultados mostrados aqui que o comportamento sinérgico é observado somente em casos onde a razão I/III para o solvente prótico puro é próxima à do componente não prótico puro na mistura sob investigação. Esta observação está em conformidade com dados da literatura.⁴⁹⁻⁵³ Efeitos sinérgicos para o corante **1** em misturas de solventes são interpretados como sendo um resultado da solvatação do corante por uma espécie mais polar S_{12} .⁴⁹⁻⁵³ Isto é observado aqui para misturas de THF com metanol, uma vez que os valores intermediários de I/III , embora maiores do que ambos os valores de I/III

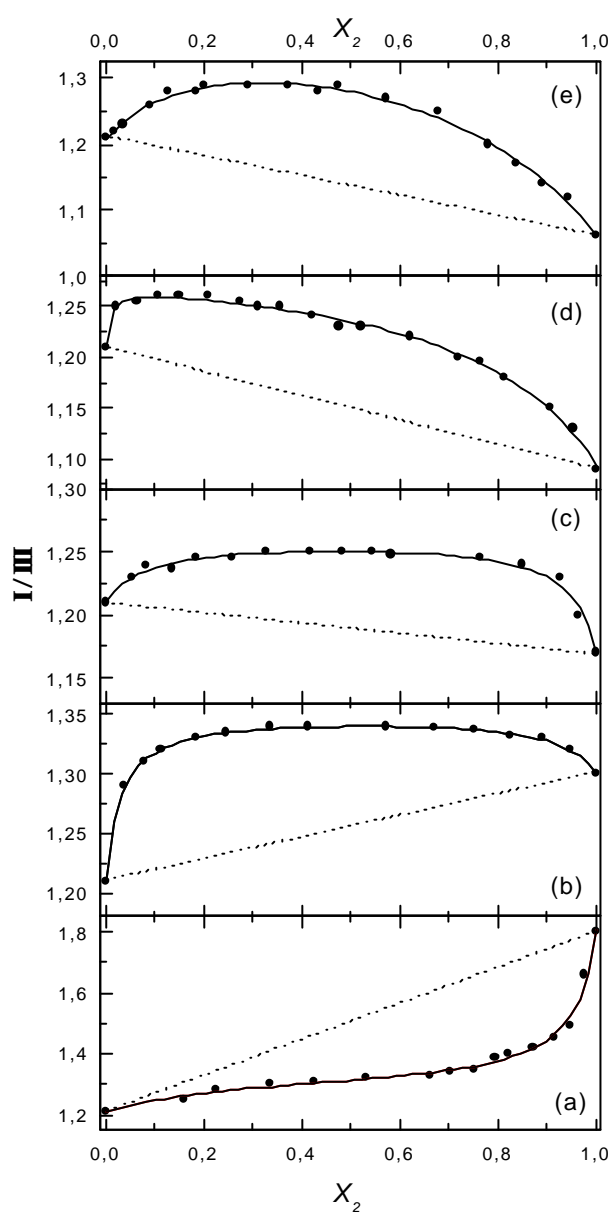


Figura 15 – Influência do cossolvente prótico na razão I/III para as bandas de emissão do pireno em misturas de THF com ROH, sendo ROH igual a água (a), metanol (b), etanol (c), *iso*-propanol (d) e *n*-butanol (e). (.....) Dependência linear teórica sem solvatação preferencial; (—) curva ajustada com a equação 11; (•) resultados experimentais.

para os solventes puros, estão próximos do solvente mais polar (metanol). Entretanto, em outras misturas sinérgicas de THF, foi observado que os valores de I_{THF} estão próximos dos valores de I_{THF} em THF, o cossolvente mais hidrofóbico. Em outras palavras, nestas misturas de THF, a sonda é solvatada por espécies menos polares S_{12} . Pode ser considerado que estas últimas espécies são resultantes das interações solvente-solvente do THF com os álcoois por meio tanto de ligações de hidrogênio como de interações hidrofóbicas. A interação hidrofóbica, menos significativa para as espécies THF-metanol, alcança importância crescente com o aumento na cadeia alquílica do álcool. Como um resultado, as espécies S_{12} compõem um micro-ambiente mais polar na camada de solvatação do pireno para misturas de THF com metanol, enquanto as espécies similares nas outras misturas de THF com ROH formam um conjunto menos polar.

No estudo de Dawber,⁸⁶ envolvendo a solvatação de **1** em misturas de THF com metanol, observa-se um comportamento não-linear devido à solvatação preferencial de **1** pelo metanol. No presente estudo de misturas de THF com metanol, utilizando o pireno, observou-se o aparecimento de sinergia, o que não ocorreu nos estudos de Dawber. Com isso, percebe-se que para essas misturas, o pireno mostra-se uma sonda mais adequada para investigar as interações solvente-solvente (Figura 15b).

4.3.3- Misturas contendo dimetilsulfóxido

A Figura 16 descreve as variações na razão I/I_0 do pireno como uma função de X_2 para as misturas de DMSO com solventes próticos ROH. Todas as curvas foram ajustadas através da equação 11, e os parâmetros obtidos para cada mistura binária de solventes são mostrados na Tabela 7.

A sinergia foi observada para as misturas de DMSO com água e DMSO com metanol [Figura 16(a)-(b)]. Foi observado por Marcus que solventes miscíveis altamente polares, como o DMF ou o DMSO, interagem tão fortemente com água que a fração em mol da espécie associada DMSO-água unida por ligação de hidrogênio é maior do que a fração em mol da água e do que a fração em mol da água auto-associada.⁹⁸ Esta observação pode explicar não somente o comportamento sinérgico das misturas de água com DMSO, mas também nas misturas de metanol com DMSO. A vizinhança do pireno nestas misturas está repleta por estas espécies associadas DMSO-ROH, as quais orientam os seus grupos metila hidrofóbicos em direção à sonda. Esta deve ser a origem do micro-ambiente hidrofóbico relatado pelo pireno.

As outras misturas alcoólicas contendo DMSO não apresentaram comportamento sinérgico [Figura 16(c)-(e)]: as curvas de I/I_0 versus X_2 apresentaram comportamento quase ideal. O formato semelhante destas curvas está provavelmente relacionado com a habilidade semelhante daqueles álcoois como doadores de ligação de hidrogênio (Tabela 3). A pequena capacidade daqueles álcoois para formar agregados do tipo DMSO-ROH, em comparação com as misturas de DMSO com água, pode ainda explicar o fato de que estas curvas não sejam sinérgicas. Além disso, a ausência de sinergia nestas misturas pode ser um resultado do fato observado acima de que a diferença entre as razões I/I_0 para o DMSO puro e os álcoois etanol, *iso*-propanol e *n*-butanol são grandes em comparação com a diferença entre os valores de I/I_0 para o solvente não prótico (1,87) e para a água (1,81). Considerando-se que o metanol é um solvente intermediário entre os solventes próticos se os valores de I/I_0 são comparados, uma sinergia pequena é observada nas suas misturas com DMSO.

Tabela 7- Parâmetros das misturas com dimetilsulfóxido a 25°C obtidos dos dados experimentais com o uso da equação 11

Mistura binária	I/III_1	I/III_2	I/III_{12}	$f_{2/1}$	$f_{12/1}$	desvio padrão
DMSO-água	1,86	1,81	2,02	0,620	3,88	6×10^{-5}
DMSO-metanol	1,87	1,32	1,93	3,11	12,5	7×10^{-5}
DMSO-etanol	1,87	1,15	1,65	1,94	4,67	9×10^{-5}
DMSO- <i>iso</i> -propanol	1,85	1,09	1,18	0,0854	1,42	1×10^{-4}
DMSO- <i>n</i> -butanol	1,87	1,07	1,35	0,450	1,93	1×10^{-4}

Rosés⁵¹ utilizou o corante **1** como sonda e conseguiu observar o aparecimento de sinergia em misturas de DMSO com etanol e de DMSO com *iso*-propanol. Neste caso, as interações da sonda (soluto) com o solvente não foram tão fortes, permitindo assim uma maior interação solvente-solvente de modo que S_{12} fosse a espécie formada predominante. Isto não ocorreu no presente trabalho ao se utilizar o pireno para estudar essas misturas. Conforme pode ser observado na Figura 16c-d, não houve o aparecimento de sinergia. Neste caso, o comportamento se aproxima do comportamento ideal, indicando que a solvatação do pireno pelos solventes é aproximadamente proporcional às frações em mol totais. Muito provavelmente, a maior interação hidrofóbica do pireno com estes solventes impede que as interações solvente-solvente sejam predominantes (pelo menos na região de solvatação do pireno).

Ainda no experimento de Rosés, não foi possível observar sinergia ao se utilizar o corante **1** para estudar as misturas de DMSO com água, enquanto no presente trabalho com o pireno este fenômeno aparece com bastante evidência (Figura 16 a). Pode-se concluir com o que foi visto, que dependendo do fenômeno que se queira investigar, deve-se escolher a sonda que se mostre mais adequada. Para observar, com base na mudança de polaridade, a formação de agregados entre o DMSO e o etanol e entre o DMSO e o *iso*-propanol, o composto **1** é o mais indicado, enquanto que para observar a formação de agregados entre o DMSO e a água, recomenda-se a utilização do pireno.

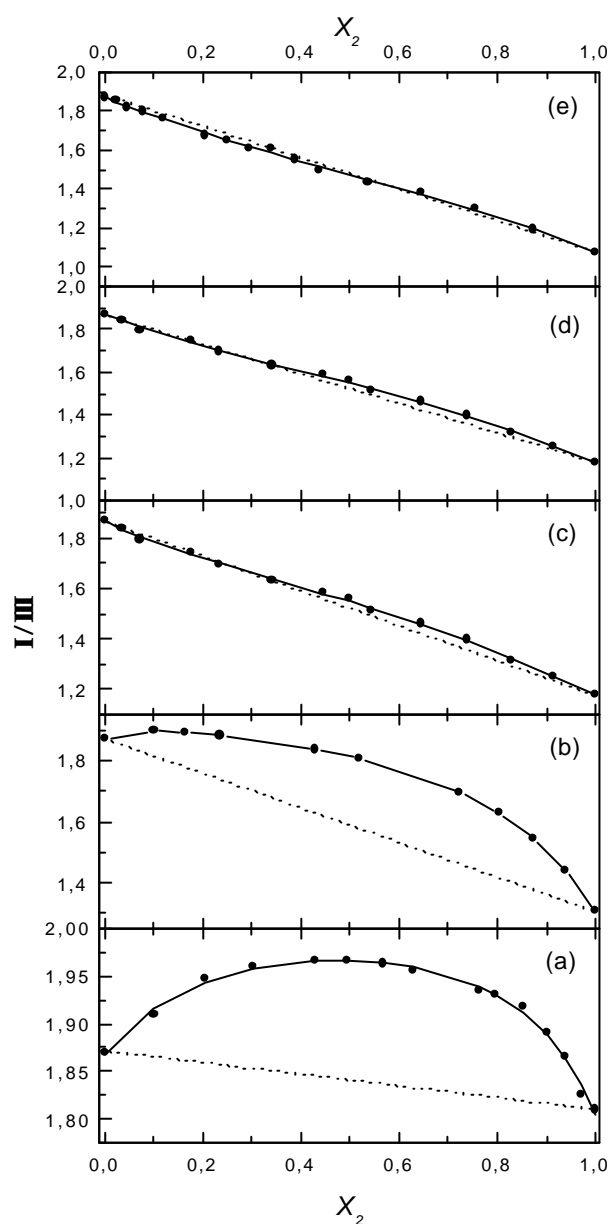


Figura 16 – Influência do cossolvente prótico na razão I/III para as bandas de emissão do pireno em misturas de DMSO com ROH, sendo ROH igual a água (a), metanol (b), etanol (c), *iso*-propanol (d) e *n*-butanol (e). (.....) Dependência linear teórica sem solvatação preferencial; (—) curva ajustada com a equação 11; (•) resultados experimentais.

4.3.4- Misturas contendo *N,N*-dimetilformamida

As variações na razão I/III do pireno em função de X_2 são mostradas na Figura 17 para misturas de DMF com os solventes próticos. O ajuste das curvas através da equação 11 permite obter os parâmetros para cada mistura (Tabela 8).

Tabela 8 -Parâmetros das misturas com *N,N*-dimetilformamida a 25°C obtidos dos dados experimentais com o uso da equação 11

Mistura binária	I/III_1	I/III_2	I/III_{12}	$f_{2/1}$	$f_{12/1}$	desvio padrão
DMF-água	1,81	1,81	1,73	0,329	8,28	4×10^{-6}
DMF-metanol	1,81	1,36	1,80	1,86	3,65	7×10^{-5}
DMF-etanol	1,81	1,19	1,60	0,309	1,04	3×10^{-5}
DMF- <i>iso</i> -propanol	1,82	1,13	1,51	0,469	2,19	4×10^{-5}
DMF- <i>n</i> -butanol	1,82	1,09	1,35	0,174	1,72	8×10^{-5}

Primeiramente, pode ser observado que as misturas de DMF com água são sinérgicas [Figura 17(a)]. Nestas misturas, as espécies S_{12} são responsáveis por um microambiente menos polar na esfera de solvatação do pireno. A alta polaridade do DMF faz com que suas moléculas interajam tão fortemente com água que a fração em mol da espécie associada DMF-água unida por ligação de hidrogênio é maior do que a fração em mol da água e do que a fração em mol da água auto-associada, assim como foi visto no caso do DMSO.⁹⁸ Esta observação pode explicar o comportamento sinérgico nas misturas de água com DMF. Connors,⁹⁷ ao utilizar o corante **1** em misturas de DMF com água, verificou a ausência de sinergia. Novamente, assim como para o DMSO, o pireno se mostra mais adequado que o corante **1** para a verificação dos agregados DMF-água.

Para as misturas alcoólicas, não foi observada sinergia embora a sonda seja preferencialmente solvatada em uma pequena extensão pelos componentes menos polares das misturas. A extensão da solvatação preferencial diminuiu com o aumento da cadeia alquílica devido ao fato de que, quanto mais hidrofóbicos forem os cossolventes alcoólicos, mais solvatada estará a sonda hidrofóbica. Como um resultado, as misturas de DMF com *n*-butanol [Figura 17(e)] mostram um comportamento quase ideal.

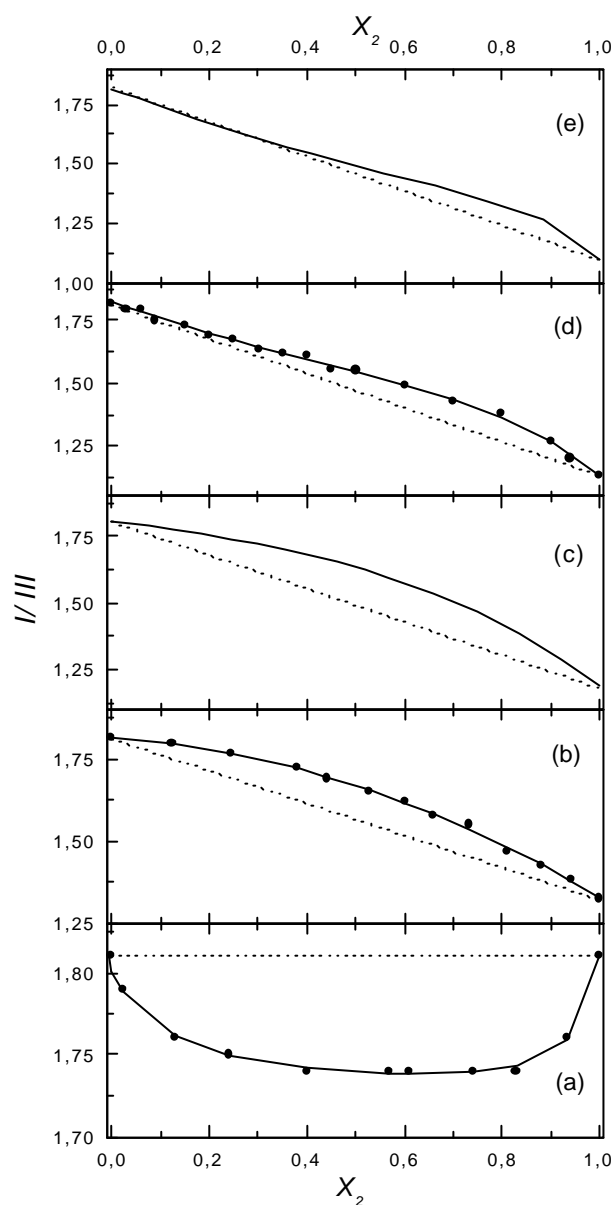


Figura 17 – Influência do cossolvente prótico na razão $I//III$ para as bandas de emissão do pireno em misturas de DMF com ROH, sendo ROH igual a água (a), metanol (b), etanol (c), *iso*-propanol (d) *n*-butanol (e). (.....) Dependência linear teórica sem solvatação preferencial; (—) curva ajustada com a equação 11; (•) resultados experimentais.

4.3.5- Estudo do efeito isotópico - Influência da mudança de água por D₂O nas misturas contendo DMF e DMSO

O grande efeito do D₂O na fluorescência de vários cromóforos já foi bastante estudado.⁹⁹ Este efeito é interpretado em termos de um efeito isotópico na velocidade da transferência do próton durante o tempo de vida do estado excitado. Os cromóforos normalmente utilizados são de três tipos.

O cromóforo tipo I não contém um grupo doador de próton. Para este tipo de composto não se observa um efeito isotópico acentuado. São exemplos deste tipo de cromóforos: o 1-naftalenossulfonato, o 1,3,6-naftalenotrissulfonato, o anisol e o 1-metilindol.

O segundo tipo de cromóforo (tipo II) contém um grupo doador de próton mas somente as espécies não ionizadas são fluorescentes. Aqui, o efeito isotópico é expresso em termos de uma mudança no rendimento quântico. A emissão das espécies não ionizadas compete com a reação de supressão cuja velocidade é maior em H₂O do que em D₂O. Os compostos 5-amino-1-naftalenossulfonato, 8-amino-1,3,6-naftalenotrissulfonato, fenol, *L*-tirosina, indol e *L*-triptofano ilustram esta categoria.

Finalmente o cromóforo contém um grupo doador de próton e, além disso, tanto as formas não ionizadas como as ionizadas do cromóforo são fluorescentes (tipo III). Para estes compostos, o efeito isotópico é expresso em termos de uma mudança na forma do espectro de emissão desde que a velocidade da transferência do próton durante o estado excitado determina a proporção de emissão das espécies não ionizadas e ionizadas. O 2-naftol é um exemplo deste tipo de cromóforo.⁹⁹

O pireno pode ser classificado como pertencendo ao tipo I, uma vez que não apresenta grupo doador de próton e não apresenta efeito isotópico quando se compara o seu espectro de emissão em um solvente puro deuterado e no correspondente solvente puro não deuterado, conforme demonstrou Dong e Winnik.⁴² Provavelmente por este mesmo motivo, até o presente momento não se encontram na literatura trabalhos utilizando o pireno em estudos envolvendo

misturas com solventes deuterados. Além disso, o pireno tem sido considerado praticamente insensível a interações por ligações de hidrogênio, sendo por isso mais adequado para servir especificamente como sonda de outros aspectos referentes à polaridade do solvente.^{100,101}

Como no presente trabalho o pireno demonstrou ser uma sonda adequada para investigar interações solvente-solvente em diversas misturas, procurou-se investigar se o mesmo seria sensível o bastante para analisar possíveis diferenças quanto às interações solvente-solvente devido à substituição de H₂O por D₂O.

A Figura 18a descreve este estudo comparativo entre a solvatação do pireno em misturas de DMF com água e de DMF com D₂O. Na Figura 18b, são mostradas as diferenças entre a solvatação do pireno nas misturas de DMSO com água e de DMSO com D₂O.

Os valores dos parâmetros das misturas de DMSO e DMF com óxido de deutério são mostrados na Tabela 9, juntamente com os valores para as misturas desses solventes em água. Os valores para as misturas com óxido de deutério também foram obtidos a partir do ajuste das curvas (Figura 18) com a equação 11.

Tabela 9- Parâmetros das misturas com óxido de deutério a 25°C obtidos dos dados experimentais com o uso da equação 11

Mistura binária	I/III_1	I/III_2	I/III_{12}	$f_{2/1}$	$f_{12/1}$	desvio padrão
DMSO-H ₂ O	1,86	1,81	2,02	0,620	3,88	6×10^{-5}
DMSO-D ₂ O	1,87	1,82	1,89	0,991	33,3	1×10^{-5}
DMF-H ₂ O	1,80	1,81	1,73	0,329	8,28	4×10^{-6}
DMF-D ₂ O	1,81	1,81	1,64	0,263	0,351	7×10^{-7}

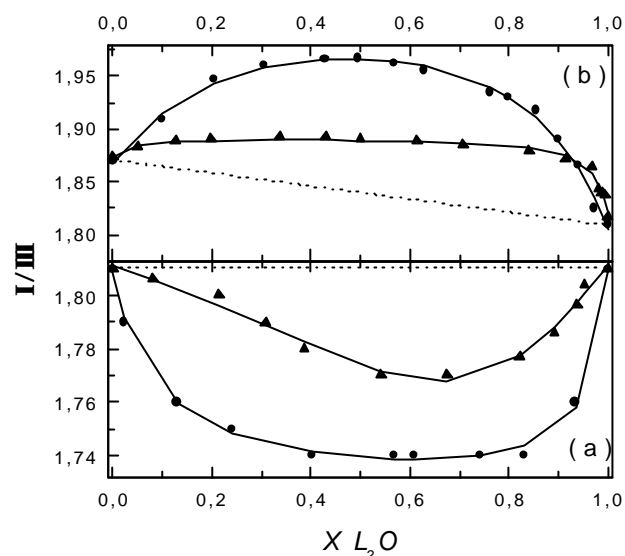


Figura 18- Influência do cossolvente prótico na razão I/III das bandas de emissão do pireno em misturas de DMF com L_2O (a) e de DMSO com L_2O (b), sendo L_2O igual a H_2O (●) e D_2O (▲).

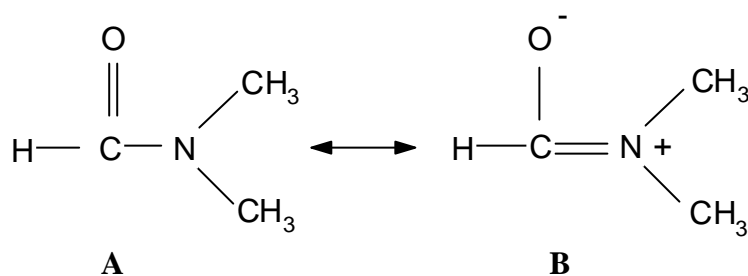
(.....) Representa a dependência teórica linear; (—) curva ajustada com a equação 11.

Embora os valores de I/III para o pireno em H_2O e em D_2O mostrem exatamente os mesmos valores (Tabela 3), suas misturas com solventes tais como o DMF e o DMSO exibem um comportamento diferente. É interessante observar que a extensão da solvatação preferencial em ambos os casos é diminuída se a água é substituída por água deuterada. Neste trabalho, considera-se que a sinergia observada nestas misturas deve-se à solvatação do pireno pelas espécies menos polares S_{12} formadas por interações específicas e não específicas. Assim, é lógico supor que a mudança de H_2O por D_2O torna estas espécies S_{12} mais polares e conseqüentemente provocam a diminuição da extensão da solvatação preferencial.

A observação de que o pireno é capaz de ‘perceber’ as espécies mais polares S_{12} nas misturas de D_2O estudadas, em comparação com misturas de H_2O , resulta provavelmente do fato de que a ligação de deutério nestas espécies é mais forte do que para as espécies S_{12} em água. Porém, de acordo com a afirmativa de Dannenberg¹⁵ de que “as conclusões sobre ligações de hidrogênio em um determinado estudo não podem ser generalizadas, mas sim válidas para o

sistema em estudo” assim também deve ser salientado que as conclusões obtidas no estudo comparativo apresentado aqui entre a ligação de hidrogênio e a ligação de deutério devem ser consideradas válidas, em princípio, apenas para este sistema.

A maior força apresentada pela ligação de deutério em comparação com a ligação de hidrogênio tem sido demonstrada em alguns estudos. West comparou a habilidade de doar grupos O D com a habilidade de doar grupos O H e observou que o fenol-*d* interage mais exotermicamente cerca de 0,3 kcal mol⁻¹ do que o fenol, com benzeno, acetato de etila, THF e éter di-*n*-butílico.²⁵ Um solvente como o DMF é um híbrido de ressonância das duas estruturas **A** e **B**.



Recentemente, foi demonstrado por meio de estudos computacionais que a ligação de hidrogênio da formamida com água tem um caráter covalente apreciável e que a solvatação da formamida por água aumenta a contribuição da estrutura dipolar (similar à estrutura **B**) para o híbrido de ressonância.¹⁰² Assim, se considerarmos que o mesmo acontece em DMF, podemos esperar que a estrutura **B** é mais favorecida em D₂O do que em H₂O já que a ligação de deutério é mais forte em D₂O. O átomo de nitrogênio positivo em **B** faz os grupos metila, que são os responsáveis pela solvatação do pireno, mais polares e esta pode ser a razão para os dados obtidos. O mesmo argumento pode ser empregado a fim de explicar o comportamento observado em misturas de DMSO.

Com os resultados obtidos, fica demonstrado que sondas como o pireno podem enriquecer consideravelmente os conhecimentos na área de investigações de interações intermoleculares e de solvatação de espécies químicas.

5- CONCLUSÕES

O modelo de solvatação preferencial apresentado aqui para a solvatação do pireno em misturas de diferentes solventes, o qual utiliza a equação 11, foi bem sucedido para ajustar todas as curvas de valores de I_{III} do pireno como uma função da fração em mol total do solvente prótico.

Observou-se neste trabalho que os agregados S_{12} na mistura de solventes podem mostrar um comportamento diferente dependendo da sonda usada na investigação. Assim, uma sonda dipolar como o 2,6-difenil-4-(2,4,6-trifenil-1-piridínio)-1-fenolato reconhece estas espécies como mais polares⁵⁰⁻⁵⁴, enquanto o pireno, uma sonda hidrofóbica, reconhece as espécies S_{12} como espécies menos polares. Isto ocorre porque este solvente misturado é capaz de solvatar diferentemente estas sondas estruturalmente diferentes.

Embora as interações envolvendo o pireno e o meio ocorram exclusivamente através de forças dipolo-dipolo, já que não é possível que ele interaja com o meio através de interações específicas (principalmente por ligações de hidrogênio), esta sonda é capaz de detectar interações solvente-solvente, as quais estão implícitas no comportamento sinérgico observado.

O estudo envolvendo o efeito isotópico também demonstrou que o pireno pôde ser utilizado como uma boa ferramenta para a investigação qualitativa da natureza das ligações de hidrogênio, podendo inclusive ser empregado como um recurso complementar em estudos sobre essas ligações em diferentes sistemas.

Finalmente, foi demonstrado que sondas hidrofóbicas tais como o pireno e outros hidrocarbonetos aromáticos policíclicos e moléculas aromáticas policíclicas contendo nitrogênio,⁴⁷ podem enriquecer consideravelmente os conhecimentos na área da solvatação de espécies químicas e no papel do meio em fenômenos biológicos relacionados com a hidrofobicidade.¹⁶

6- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. VOET, D.; VOET, J.G. Biochemistry 1^a ed., New York; J. Wiley, 1990, 1223 p.
2. MURPHY, K.P.; PRIVALOV, P.L.; GILL, S.J. Common Features of Protein Unfolding and Dissolution of Hydrophobic Compounds. *Science*, 247: 559-561 (1990).
3. VAN OSS, C.J.; GOOD, R.J.; CHAUDHURY, M.K. Nature of the Antigen-Antibody Interaction. Primary and Secondary Bonds: Optimal Conditions for Association and Dissociation. *J. Chrom.*, 376: 111-119 (1986).
4. QUEIROZ, J.A.; TOMAZ C.T.; CABRAL, J.M.S. Hydrophobic Interaction Chromatography of Proteins. *J. Biotech.*, 87: 143-159 (2001).
5. REICHARDT, C. Solvents and Solvent Effects in Organic Chemistry 2^a ed., VCH: Weinheim, 1988, 534p.
6. SUPPAN, P.; GHONEIM, N. Solvatochromism, 1^a ed.; Royal Society of Chemistry: Cambridge, 1997, 272p.
7. MÜLLER, P. Glossary of Terms Used in Physical Organic Chemistry. *Pure Appl. Chem.*, 66: 1077-1184 (1994).
8. LATIMER, W.M.; RODEBUSH, W.H. Polarity and Ionization from the Standpoint of the Lewis Theory of Valence. *J. Am. Chem. Soc.* 42: 1419-1433 (1920).
9. TAYLOR, R.; KENNARD, O. Hydrogen-Bond Geometry in Organic Crystals. *Acc. Chem. Res.* 17: 320-326 (1984).

10. AAKERØY, C. B.; SEDDON, K. R. The Hydrogen Bond and Crystal Engineering. *Chem. Soc. Rev.*, 22: 397-407 (1993).
11. TURI, L.; DANNENBERG, J.J. Molecular-Orbital Studies of C-H...O H-Bonded Complexes. *J. Phys. Chem.*, 97: 7899-7909 (1993).
12. FOWLER, P.W.; LEGON, A.C.; REGO, C.A.; TOLE, P. Theoretical and Experimental Evidence for Partial Ionic Character in the Trimethylamine-Hydrogen Chloride Dimer. *Chem. Phys.*, 134: 297-305 (1989).
13. SINGH, U.C.; KOLLMAN, P.A. A Water Dimer Potential Based on *Ab initio* Calculations Using Morokuma Component Analyses. *J. Chem. Phys.*, 83: 4033-4040 (1985).
14. GILLI, P.; BERTOLASI, V.; FERRETTI V. GILLI, G. Covalent Nature of the Strong Homonuclear Hydrogen Bond. Study of the O-H---O System by Crystal Structure Correlation Methods. *J. Am. Chem. Soc.*, 116: 909-915 (1994).
15. DANNENBERG, J.J.; HASKAMP, L.; MASUNOV A. Are Hydrogen Bonds Covalent or Electrostatic? A Molecular Orbital Comparison of Molecules in Electric Fields and H-Bonding Environments. *J. Phys. Chem.*, 103: 7083-7086 (1999).
16. WADE, D. Deuterium Isotope Effects on Noncovalent Interactions Between Molecules. *Chemico-Biol. Interact.*, 117: 191-217 (1999).
17. FALCONNET, J.B.; BRASIER, J.L.; DESAGE, M. Synthesis of Seven Deuteromethylcaffeine Analogues; Observation of Deuterium Isotope Effects on CMR Analysis. *J. Label. Compd. Radiopharm.*, 23: 267-276 (1986).

18. BRASIER, J.L.; RIBON, B.; FALCONNET, J.B.; CHERRAH, Y.; BENCHEKROUN, Y. Studies and Use of Isotope Effects in Pharmacology. *Therapie*, 42: 445-450 (1987).
19. CHERRAH Y.; FALCONNET, J.B.; DESAGE, M.; BRASIER, J.L.; ZINI R.; TILLEMENT J.P. Study of Deuterium Isotope Effects on Protein Binding by Gas Chromatography-Mass Spectrometry. Caffeine and Deuterated Isotopomers. *Biomed. Environm. Mass Spectrom.*, 14: 653-657 (1987).
20. CHERRAH Y.; ZINI, R.; FALCONNET, J.B.; DESAGE, M.; TILLEMENT, J.P.; BRASIER, J.L. Study of Deutero-Isotopomer-Induced Inhibition of Caffeine and Phenobarbitone Binding to Human Serum Albumin. *Biochem. Pharmacol.*, 37: 1311-1315 (1988).
21. CHERRAH Y.; FALCONNET, J.B.; DESAGE, M.; BRASIER, J. L.; ZINI, R.; TILLEMENT, J.P. Study of Isotope Effects on Protein Binding by Gas Chromatography/Mass Spectrometry of Theophylline-Phenobarbitone and ^2H , ^{13}C and ^{15}N Isotopomers. *Biomed. Environm. Mass Spectrom.*, 17: 245-250 (1988).
22. BAILLIE, T.A. The Use of Stable Isotopes in Pharmacology Research. *Pharmacol. Rev.*, 33: 81-132 (1981).
23. BECHALANY, A.; ELTAYAR, N.; CARRUPT, P.A.; TESTA, B.; FALCONNET, J.B.; CHERRAH, Y.; BENCHEKROUN, Y.; BRASIER, J. L. Isotope Effects on the Lipophilicity of Deuterated Caffeines. *Helv. Chim. Acta*, 72: 472-476 (1989).
24. COETZEE, J.F.; RITCHIE, C.D., Solute-Solvent Interactions, 1, Ed. Marcel Dekker, New York, 1969, 352-354.

25. NEMETHY, G.; SCHERAGA, H.A. The Structure of Water and Hydrophobic Bonding in Proteins. III- The Thermodynamic Properties of Hydrophobic Bonds in Proteins. *J.Chem. Phys.*,36: 3382-3401 (1962).
26. NEMETHY, G.; SCHERAGA, H.A. The Structure of Water and Hydrophobic Bonding in Proteins. IV- The Thermodynamic Properties of Liquid D₂O. *J.Chem. Phys.*,41: 680-689 (1964).
27. BENJAMIN, L.; BENSON, G.C. A Deuterium Isotope Effect on Excess Enthalpy of Methanol Water Solutions. *J.Phys.Chem.*,67: 858 (1963).
28. ISAACS, E.D.; SHUKLA, A.; PLATZMAN, P.M.; HAMANN, D.R.; BARBIELLINI, B.; TULK, C.A. Covalency of the Hydrogen Bond in Ice: A Direct X-Ray Measurement. *Phys. Rev. Lett.*,82: 600-603 (1999).
29. BAKER, B.R., Interactions of Enzymes and Inhibitors. *J.Chem. Educ.*, 44:610 (1967).
30. ENGBERTS, J.B.F.N. Organic Reactions in Highly Aqueous Binaries. *Pure Appl.Chem.*, 54: 1797-1808 (1982).
31. FRANK, H.S.; EVANS, M.W. Free Volume and Entropy in Condensed Systems.3. Entropy in Binary Liquid Mixtures – Partial Molal Entropy in Dilute Solutions – Structure and Thermodynamics in Aqueous Electrolytes. *J. Chem. Phys.*,13: 507-532 (1945).
32. NAIM, A.B. Statistical Mechanical Study of Hydrophobic Interactions. I. Interaction Between Two Identical Nonpolar Solute Particles. *J.Chem.Phys.*, 54: 1387-1404 (1971).

33. CRAMER, R.D. Hydrophobic Interactions and Solvation Energies – Discrepancies Between Theory and Experimental Data. *J. Am. Chem. Soc.*, 99: 5408-5412 (1977).
34. EVANS, D.F.; CHEN, S.H.; SCHRIVER, G.W.; ARNETT, E.M. Thermodynamics of Solution of Nonpolar Gases in a Fused Salt. "Hydrophobic Bonding" Behavior in a Nonaqueous System. *J. Am. Chem. Soc.*, 103: 481-482 (1981).
35. ABRAHAM, M.H. Hydrophobic Effect of the CH₂ Group: Enthalpy and Entropy Contributions. *J. Am. Chem. Soc.*, 102: 5910-5912 (1980).
36. REICHARDT, C.; HARBUSCH-GORNERT, E. Pyridinium *N*-Phenoxide Betaines and their Application. *Liebigs Ann. Chem.*, 721-743 (1983).
37. KOSOWER, E.M. The Effect of Solvent on Spectra .1. A New Empirical Measure of Solvent Polarity. Z-Values. *J. Am. Chem. Soc.*, 80: 3253-3260 (1958).
38. REICHARDT, C. Solvatochromic Dyes as Solvent Polarity Indicators. *Chem. Rev.*, 94: 2319-2358 (1994)
39. BRAND, L.; GOHLKE, J.R. Fluorescence Probes for Structure. *Annu. Rev. Biochem.*, 41: 843-868 (1972).
40. NAKAJIMA, A. Solvent Effect on the Vibrational Structures of the Fluorescence and Absorption Spectra of Pyrene. *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 44: 3272-3277 (1971).

41. KALYANASUNDARAM, K.; THOMAS, J.K. Environmental Effects on Vibronic Band Intensities in Pyrene Monomer Fluorescence and Their Application in Studies of Micellar Systems. *J. Am. Chem. Soc.*, 99: 2039-2044 (1977).
42. DONG, D.C., WINNIK, M.A. The *Py* Scale of Solvent Polarities. Solvent Effects on the Vibronic Fine Structure of Pyrene Fluorescence and Empirical Correlations with E_t and Y values. *Photochem. Photobiol.*, 35: 17-21 (1982).
43. LINCOLN, S.F. Solvent Coordination Number of Metal Ions in Solution. *Coord. Chem. Rev.*, 6, 309 (1971).
44. HINTON, J.F.; AMIS, E.S. Solvation Number of Ions. *Chem. Rev.*, 71: 627 (1971).
45. SCHUSTER, P.; JACUBETZ, W.; MARIUS, W. Molecular Models for the Solvation of Small Ions and Polar Molecules. *Top Curr. Chem.*, 60: 1 (1975).
46. ENGEL, G.; HERTZ, H.G. Negative Hydration. A Nuclear Magnetic Relaxation Study. *Ber. Bunsenges. Phys. Chem.*, 72: 808-834 (1968).
47. ACREE, W.E.Jr.; TUCKER, S.A.; WILKINS, D.C. Spectrochemical Investigations of Preferential Solvation. Fluorescence Emission Behavior of Select Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Solute Probes Dissolved in Mixed Solvents. *J. Phys. Chem.*, 97: 11199-11203 (1993).
48. ACREE, W.E.Jr.; WILKINS, D.C.; TUCKER, S.A.; GRIFFIN, J.M.; POWELL, J.R. Spectrochemical Investigations of Preferential Solvation. 2. Compatibility of Thermodynamic Models Versus Spectrofluorometric Probe Methods for Tautomeric Solutes Dissolved in Binary Mixtures. *J. Phys. Chem.*, 98: 2537-2544 (1994).

49. BOSCH, E.; ROSÉS, M. Relations Between E_T Polarity and Composition in Binary Solvent Mixtures. *J. Chem. Soc. Faraday Trans.*, 88: 3541-3546 (1992).
50. ORTEGA, J.; RÀFOLS, C.; BOSCH, E.; ROSÉS, M. Solute-Solvent and Solvent-Solvent Interactions in Binary Solvent Mixtures. Part 3. The E_T (30) Polarity of Binary Mixtures of Hydroxylic Solvents. *J. Chem. Soc. Perkin. Trans. 2*, 1497-1503 (1996).
51. ROSÉS, M.; RÀFOLS, C.; ORTEGA, J.; BOSCH, E. Solute-Solvent and Solvent-Solvent Interactions in Binary Solvent Mixtures. Part 1. A Comparison of Several Preferential Solvation Models for Describing E_T (30) Polarity of Dipolar Hydrogen Bond Acceptor-Cosolvent Mixtures. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*, 1607-1615 (1995).
52. BOSCH, E.; ROSÉS, M. Solute-Solvent and Solvent-Solvent Interactions in Binary Solvent Mixtures. 2. Effect of Temperature on the E_T (30) Polarity Parameter of Dipolar Hydrogen Bond Acceptor-Hydrogen Bond Donor Mixtures. *J. Phys. Org. Chem.*, 9: 403-410 (1996).
53. HERODES, K.; LEITO, I.; KOPPEL, I.; ROSÉS, M. Solute-Solvent and Solvent-Solvent Interactions in Binary Solvent Mixtures. Part 8. The E_T (30) Polarity of Binary Mixtures of Formamides with Hydroxylic Solvents. *J. Phys. Org. Chem.*, 12: 109-115 (1999).
54. MANCINI, P.M.E.; TERENCEZANI, A.; ADAM, C.; VOTTERO, L.R. Solvent Effects on Aromatic Nucleophilic Substitution Reactions. Part 7. Determination of the Empirical Polarity Parameter $E_T(30)$ for Dipolar Hydrogen Bond Acceptor-Cosolvent (Chloroform or Dichloromethane) Mixtures. Kinetics of the Reactions of Halonitrobenzenes with Aliphatic Amines. *J. Phys. Org. Chem.*, 10: 849-860 (1997).

55. MANCINI, P.M.E.; TEREZANI, A.; ADAM, C.; PEREZ, A.; VOTTERO, L.R. Characterization of Solvent Mixtures. Part 8 – Preferential Solvation of Chemical Probes in Binary Solvent Systems of a Polar Aprotic Hydrogen-Bond Acceptor Solvent with Acetonitrile or Nitromethane. Solvent Effects on Aromatic Nucleophilic Substitution Reactions. *J. Phys. Org. Chem.*, 12: 207-220 (1999).
56. MACHADO, V.G.; MACHADO, C.; NASCIMENTO, M.G.; REZENDE, M.C. Solvatochromism and Preferential Solvation of Aryliminomethylpyridinium Iodides in Binary Mixtures. *J. Phys. Org. Chem.*, 10: 731-736 (1997).
57. BAGNO, A.; SCORRANO, G.; STIZ, S. Preferential Solvation of Neutral Species in Binary Solvent Mixtures Characterized by ^1H NOESY NMR Spectroscopy. *J. Am. Chem. Soc.*, 119: 2299-2300 (1997).
58. KOVRIGIN, L.E.; POTEKHIN, S.A. Preferential Solvation Changes Upon Lysozyme Heat Denaturation in Mixed Solvents. *Biochemistry*, 36: 9195-9199 (1997).
59. KUSUMOTO, Y.; TAKESHITA, Y.; KURAWAKI, J.; SATAKE, I. Preferential Solvation Studied by the Fluorescence Spectrum of Pyrene in Water-Alcohol Binary Mixtures. *Chem. Lett.*, 349-350 (1997).
60. LANGHALS, H. Polarity of Binary Liquid Mixtures. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 21: 724-733 (1982).
61. MARCUS, Y. Use of Chemical Probes for the Characterization of Solvent Mixtures. Part 1. Completely Non-Aqueous Mixtures. *J. Chem. Soc. Perkin Trans.2*, 1015-1021 (1994).

62. MARCUS, Y. The Use of Chemical Probes for the Characterization of Solvent Mixtures. 2. Aqueous Mixtures. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*, 1751-1758 (1994).
63. BAGNO, A.; CAMPULLA, M.; PIRANA, M.; SCORRANO, G.; STIZ, S. Preferential Solvation of Organic Species in Binary Solvent Mixtures Probed by Intermolecular ¹H-1 NOESY NMR Spectroscopy. *Chem. Eur. J.*, 5: 1291-1300 (1999).
64. BAGNO, A.; SCORRANO, G. Selectivity in Proton Transfer, Hydrogen Bonding, and Solvation. *Acc. Chem. Res.*, 33: 609-616 (2000).
65. DAWBER, J.G.; ETEMAD, S.; BECKET, M.A. Computer Simulation and Solvatochromic Studies of the Solvation of a Betaine in Single and Mixed Solvent Systems. *J. Chem. Soc. Faraday Trans.*, 86: 3725-3729 (1990).
66. SCREMIN, M.; ZANOTTO, S.P.; MACHADO, V.G.; REZENDE, M.C. Preferential Solvation of a Beta-Sensitive Dye in Binary Mixtures of a Non-Protic and a Hydroxylic Solvent. *J. Chem. Soc. Faraday Trans.*, 90: 865-868 (1994).
67. HENSELER, A.; von RAUMER, M.; SUPPAN, P. Observation of Dielectric Enrichment Upon the Formation of Benzophenone Radical Anion in a Binary Solvent Mixture. *J. Chem. Soc. Faraday Trans.*, 92: 391-393 (1996).
68. NOVAKI, L.P.; EI SEOUD, O.A. Solvatochromism in Alcohol-Water Mixtures: Effects of the Molecular Structure of the Probe. *Ber. Bunsenges. Phys. Chem.*, 101: 105-113 (1997)

69. SOROKA, J.A.; SOROKA, K.B. Solvatochromism of Dyes. Part III. Solvatochromism of Merocyanines in Some Binary Mixtures of Solvents. SA-SAB-SB, a New Model of Solvatochromism. *J. Phys. Org. Chem.*, 10: 647-661, 1997.
70. FAYED, T.; ETAIW, S.E.H. Preferential Solvation of Solvatochromic Benzothiazolinic Merocyanines in Mixed Binary Solvents. *Spectrochim. Acta A*, 54: 1909-1918 (1998).
71. SPANGE, S.; LAUTERBACH, M.; GYRA, A.K.; REICHARDT, C. Pyridinium *N*-Phenoxide Betaines and Their Application for the Characterization of Solvent Polarities. 16. Determination of the Empirical Parameters of Solvent Polarity $E_T(30)$ and for 55 Substituted Phenols. *Liebigs Ann. Chem.*, 4: 323-329 (1991).
72. LERF, C.; SUPPAN, P. Hydrogen Bonding and Dielectric Effects in Solvatochromic Shifts. *J. Chem. Soc. Faraday Trans.*, 88: 963-969 (1992).
73. COLEMAN, C.A.; MURRAY, C.J. Hydrogen Bonding Between a *N*-Pyridinium Phenolate Betaine and O-H Donors in Acetonitrile. *J. Org. Chem.*, 57: 3578-3582 (1992).
74. SUPPAN, P. Local Polarity of Solvent Mixtures in the Field of Electronically Excited Molecules and Exciplexes. *J. Chem. Soc. Faraday Trans. 1*, 83: 495-509 (1987).
75. CATTANA, R.; SILBER, J.J.; ANUNZIATA J. Dielectric Enrichment in Binary Solvent Mixtures. The Intramolecular Hydrogen Bond in *N*-Alkyl-Substituted *o*-Nitroanilines. Substituent Effects. *Can. J. Chem.*, 70: 2677-2682 (1992).

76. BOGGETTI, H.; ANUNZIATA, J.D.; CATTANA, R.; SILBER, J.J. Solvatochromic Study on Nitroanilines. Preferential Solvation vs Dielectric Enrichment in Binary Solvent Mixtures. *Spectrochim. Acta A*, 50: 719-726 (1994).
77. MARCUS, Y.; MIGRON, Y. Polarity, Hydrogen Bonding and Structure of Mixtures of Water and Cyanomethane. *J. Phys. Chem.*, 95: 400-406 (1991).
78. CHATTERJEE, P.; BAGCHI, S. Preferential Solvation in Mixed Binary Solvents by Ultraviolet-Visible Spectroscopy. *N*-Ethyl-4-Cyanopyridinium Iodide in Alcohol-Acetone Mixtures. *J. Chem. Soc. Faraday Trans.*, 87: 587-589 (1991).
79. CHATTERJEE, P.; LAHA, A.K.; BAGCHI, S. Preferential Solvation in Mixed Binary Solvents: Ultraviolet-Visible Spectroscopy of *N*-Alkylpyridinium Iodides in Mixed Solvents Containing Cyclic Ethers. *J. Chem. Soc. Faraday Trans.*, 88: 1675-1678 (1992).
80. MARCUS, Y. The Properties of Organic Liquids That Are Relevant to Their Use as Solvating Solvents. *Chem. Soc. Rev.*, 22: 409-416 (1993).
81. MARCUS, Y. Preferential Solvation in Mixed Solvents. Part 7. Binary Mixtures of Water and Alkanolamines. *J. Chem. Soc. Faraday Trans.*, 91: 427-430 (1995).
82. SHULGIN, I.; RUCKENSTEIN, E. Kirkwood-Buff Integrals in Aqueous Alcohol Systems: Aggregations, Correlation Volume, and Local Composition. *J. Phys. Chem. B*, 103: 872-877 (1999).

83. DAWBER, J.G. Relationship Between Solvatochromic Solvent Polarity and Various Thermodynamic and Kinetic Data in Mixed Solvent Systems. *J. Chem. Soc. Faraday Trans.*, 86: 287-291 (1990).
84. RANSDELL, R.A.; WAMSER, C. C. Solvent and Substituent Effects on the Redox Properties of Free-Base Tetraphenylporphyrins in DMSO and Aqueous DMSO. *J. Phys. Chem.*, 96: 10572-10575 (1992).
85. TARKKA, R.M.; UM, I.-H.; XIE, H.-Q.; CHATROUSE, A.-P.; TERRIER, F.; HOZ, S.; BUNCEL, E. Effect of Solvent Composition on the Acidity of Phenols in Dimethyl Sulfoxide-Water Mixtures. *J. Phys. Org. Chem.*, 11: 847-852 (1998).
86. DAWBER, J.G.; WARD, J.; WILLIAMS, R.A. A Study in Preferential Solvation Using a Solvatochromic Pyridinium Betaine and Its Relationship With Reaction Rates in Mixed Solvents. *J. Chem. Soc. Faraday Trans.1*, 84: 713-727 (1988).
87. LINERT, W.; STRAUSS, B.; HERLINGER, E.; REICHARDT, C. Alkylation of Pyridinium-*N*-Phenoxide Betaine Dyes With Iodomethane: Substituent, Solvent and Temperature Dependence. *J. Phys. Org. Chem.*, 5: 275-284 (1992).
88. MACHADO, V.G.; NOME, F. Acyl Transfer Reactions in Dipolar Aprotic Medium: Desolvated Phosphate Ion as Acyl Acceptor in the Formation of Energy-Rich Phosphate Compounds. *Chem. Commun.*, 1917-1918 (1997).
89. MACHADO, V.G.; BUNTON, C.A.; ZUCCO, C.; NOME, F. Desolvated Phosphate Ions as Acyl Acceptors in Dipolar Aprotic Media. A Non-Enzymatic Model For Formation of "Energy-Rich" Acyl Phosphates. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*, 169-173 (2000).

90. HUMERES, E.; NUNES, R.J.; MACHADO, V.G.; GASQUES, M.D.G.; MACHADO, C. Ion-Dipole S_N2 Reaction in Acetone-Water Mixtures. Electrostatic and Specific Solute-Solvent Interactions. *J. Org. Chem.* 66: 1163-1170 (2001).
91. FURNISS, B.S.; HANNAFORD, A.J.; SMITH, P.W.G.; TATCHELL, A.R. Vogel's Textbook of Practical Organic Chemistry 5^a ed., Longman: London, 1989.
92. KAMLET, M.J.; ABBOUD, J.-L.M.; ABRAHAM, M.H.; TAFT, R.W. Linear Solvation Energy Relationships. 23. A Comprehensive Collection of the Solvatochromic Parameters, ρ^* , α , and β , and Some Methods For Simplifying the Generalized Solvatochromic Equation. *J. Org. Chem.*, 48: 2877-2887 (1983).
93. STREET, K.W., Jr.; ACREE, W.E., Jr., Experimental Artifacts and Determination of ρ Values, *Analyst*, 111: 1197-1201 (1986).
94. ABBOUD, J.L.M.; TAFT, R.W.; KAMLET, M.J. Linear Solvation Energy Relationships. Part 27. Correlation of Additional Solvent Property Scales With the Solvatochromic Parameter π^* . *J. Chem. Res., Synop.*, 98-99 (1984).
95. MACHADO, A.E.H.; NICODEM, D.E.; RUGGIERO, R.; PEREZ, D.S.; CASTELLAN, A. The Use of Fluorescence Probes in the Characterization of Lignin: the Distribution, by Energy, of Fluorophores in *Eucalyptus grandis* Lignin. *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.*, 138: 253-259 (2001).
96. WINNIK, M.; REGISMOND, S.T.A. Fluorescence Methods in the Study of the Interactions of Surfactants With Polymers. *Coll. Surf. A: Physicochem. Eng. Aspects*, 118: 1-39 (1996).

97. SKWIERCZYNSKI, R.D.; CONNORS, K.A. Solvent Effects on Chemical Process. Part 7. Quantitative Description of the Composition Dependence of the Solvent Polarity Measure $E_T(30)$ in Binary Aqueous-Organic Solvent Mixtures. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*, 467-472 (1994).
98. MARCUS, Y. The Use of Chemical Probes For the Characterization of Solvent Mixtures. Part 2. Aqueous Mixtures. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*, 1751-1758 (1994).
99. STRYER, L. Excited-State Proton-Transfer Reactions. A Deuterium Isotope Effect on Fluorescence. *J. Am. Chem. Soc.*, 88: 5708-5712 (1966).
100. KAMLET, M.J.; ABBOUD J.L.; TAFT R.W. Solvatochromic Comparison Method.6. Pi-Star Scale of Solvent Polarities. *J. Am. Chem. Soc.*, 99: 6027-6038 (1977).
101. NAKAJIMA, A. Solvent Enhancement in the First Singlet-Singlet Transition of Pyrene-d₁₀. *Spectrochim. Acta A* 30: 860-862 (1974).
102. PARREIRA, R.L.T.; GALEMBECK, S.E.; MORGON, N.H. Livro de Resumos da 24^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, QT-016, 2001.

7- APÊNDICE

7.1- Modelos de solvatação preferencial

Modelo 1

Para uma mistura binária composta pelos solventes apróticos 1 (S_1) e próticos 2 (S_2) o valor observado de I/III , é dado pela equação (14) onde X_1^L e X_2^L são as frações em mol dos solventes 1 e 2 na microesfera de solvatação da sonda, chamada fração em mol local, e I/III_1 e I/III_2 são as razões I/III da sonda (pireno) nos solventes puros 1 e 2.

$$I/III = \frac{X_1^L I/III_1 + X_2^L I/III_2}{X_1^L + X_2^L} \quad \text{equação (14)}$$

Rosés propôs um parâmetro de solvatação preferencial, $f_{2/1}$, que mede a tendência de a sonda ser solvatada pelo solvente 2 preferencialmente ao solvente 1.⁵¹ A solvatação depende também da fração em mol dos dois solventes na mistura de solventes como um todo (X_1^0 e X_2^0) e $f_{2/1}$ é a razão

$$f_{2/1} = \frac{X_2^L/X_1^L}{X_2^0/X_1^0} \quad \text{equação (15)}$$

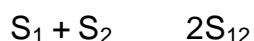
Considerando que $X_1^0 + X_2^0 = X_1^L + X_2^L = 1$ equação (16)
a equação 14 torna-se:

$$I/III = I/III_1 + \frac{f_{2/1} (I/III_2 - I/III_1) X_2^0}{(1 - X_2^0) + f_{2/1} X_2^0} = I/III_1 + \frac{f_{2/1} (I/III_2 - I/III_1) X_2^0}{1 + (f_{2/1} - 1) X_2^0} \quad \text{equação (17)}$$

Uma forma alternativa para essa equação foi derivada baseando-se no modelo de troca de solventes de Skwierczynski e Connors.⁹⁷ Este modelo estabelece um equilíbrio entre a fração em mol da sonda (pireno) solvatada pelo solvente 1 [pireno(S₁)] e pelo solvente 2 [pireno(S₂)].



Como as quantidades dos solventes 1 e 2 solvatando a sonda são muito mais baixas do que as quantidades dos solventes na mistura como um todo, a constante de equilíbrio é igual ao parâmetro de solvatação preferencial $f_{2/1}$ da equação 15. Rosés⁴⁹ e Skwierczynski e Connors⁹⁷ observaram que esta aproximação não pode descrever completamente o comportamento de muitas misturas de solventes, utilizando como indicador o corante de Reichardt (**1**). Para explicar as misturas de solventes estudadas no presente trabalho, assumimos que os dois solventes misturados (S₁ e S₂) interagem para formar uma estrutura comum (S₁₂) com propriedades particulares, assim como fez Ortega⁵⁰. Por questões de simplificação, considera-se que os dois solventes interagem na razão de 1:1, o que significa dizer que as estruturas mistas formadas contém o mesmo número de moléculas de solvente 1 e 2. Esta hipótese foi assumida no presente trabalho. Os solventes misturados com uma estrutura estequiométrica diferente de 1:1 podem ser considerados, de um bom ponto de vista prático, como misturas de duas estruturas: a estrutura misturada 1:1 e a estrutura do solvente em excesso. Por isso, o equilíbrio para formação do solvente misto é escrito como



onde o coeficiente 2 no lado direito do equilíbrio é necessário para manter o número de moléculas de solvente constante. Este equilíbrio deve ser preferencialmente considerado um equilíbrio entre estruturas de solvente ao invés de entre moléculas individuais de solvente. A extensão das interações solvente 1-

solvente 2 é quantificada pela constante de equilíbrio (K_{12}) definida na escala da fração em mol na equação 18 abaixo,

$$K_{12} = \frac{(X_{12})^2}{X_1 X_2} \quad \text{equação (18)}$$

onde X_1 , X_2 e X_{12} são as frações em mol dos solventes S_1 , S_2 e S_{12} no equilíbrio. Estas frações em mol são relacionadas as frações em mol dos solventes misturados (X_1^0 e X_2^0) através das equações 19 a 21

$$X_1^0 = X_1 + \frac{X_{12}}{2} \quad \text{equação (19)}$$

$$X_2^0 = X_2 + \frac{X_{12}}{2} \quad \text{equação (20)}$$

$$X_1^0 + X_2^0 = X_1 + X_2 + X_{12} = X_1^L + X_2^L + X_{12}^L = 1 \quad \text{equação (21)}$$

A fração em mol do solvente S_{12} pode ser calculada pela equação 22

$$X_{12} = k - [k^2 + 4k X_2^0 (X_2^0 - 1)]^{1/2} \quad \text{equação 22}$$

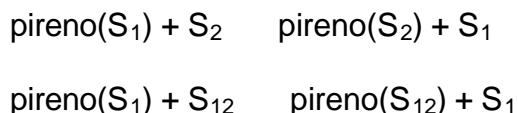
onde

$$k = \frac{K_{12}}{K_{12} - 4} \quad \text{equação 23}$$

O valor I/III da mistura é

$$I/III = X_1^L I/III_1 + X_2^L I/III_2 + X_{12}^L I/III_{12} \quad \text{equação 24} \quad (= \text{equação 10})$$

Se nós definimos dois diferentes processos de troca de solventes por



com as constantes definidas por $f_{2/1}$ (equação 15) e por $f_{12/1}$ (equação 25) então a equação 26 é obtida

$$f_{12/1} = \frac{X_{12}^L / X_1^L}{X_{12}^0 / X_1^0} \quad \text{equação (25)}$$

$$I/III = I/III_1 + \frac{f_{2/1} (I/III_2 - I/III_1) X_2^0 + a[k - (k^2 - 4k X_2^0(1-X_2^0))^{1/2}]}{1 + (f_{2/1} - 1) X_2^0 + b[k - (k^2 - 4k X_2^0(1-X_2^0))^{1/2}]} \quad \text{equação 26}$$

onde a e b são

$$a = \frac{f_{12/1} (I/III_{12} - I/III_1) - f_{2/1} (I/III_2 - I/III_1)}{2} \quad \text{equação 27}$$

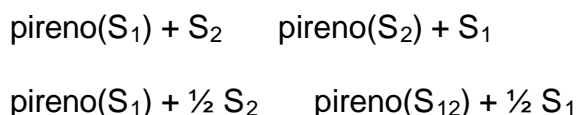
$$b = \frac{f_{12/1} - (1 + f_{12})}{2} \quad \text{equação 28}$$

A principal limitação da equação 26 é a escolha do valor de K_{12} . O valor de I/III é muito sensível à proporção dos solventes S_1 , S_2 e S_{12} na microesfera de solvatação, mas não à sua proporção no solvente como um todo. Assim, uma estimativa direta de K_{12} a partir de valores de I/III da mistura é muito arriscado. Em outras palavras, uma alta proporção de S_{12} na esfera de solvatação pode vir de um alto valor de $f_{12/1}$ ou de um alto valor de K_{12} . A estimativa simultânea de ambos

os parâmetros é muito difícil, e geralmente leva a grandes erros na avaliação dos parâmetros.

Uma alternativa para este modelo de solvatação preferencial é assumir que o solvente 12 é formado na microesfera de solvatação da sonda a partir dos solventes 1 e 2. Esta é uma das suposições de Skwierczynski e Connors⁹⁷ e que foi considerado no modelo de solvatação preferencial visto em Resultados e Discussão (chamado modelo 2).

Se nós assumimos a formação do solvente 12 na microesfera de solvatação, os processos de troca de solventes serão escritos como



com a constante de equilíbrio $f_{2/1}$ definida na equação 15 e $f_{12/1}$ definida na equação 29.

$$f_{12/1} = \frac{X_{12}^L / X_1^L}{(X_{12}^0 / X_1^0)^{1/2}} \quad \text{equação (29)}$$

A equação final obtida é apresentada na equação 30

$$\begin{aligned} I/III &= I/III_1 + \frac{f_{2/1} (I/III_2 - I/III_1) X_2^0 + c (1-X_2^0) X_2^0)^{1/2}}{(1-X_2^0) + f_{2/1} X_2^0 + f_{12/1} (1-X_2^0) X_2^0)^{1/2}} \\ &= I/III_1 + \frac{f_{2/1} (I/III_2 - I/III_1) X_2^0 + c (1-X_2^0) X_2^0)^{1/2}}{1 + (f_{2/1}-1) X_2^0 + d (1-X_2^0) X_2^0)^{1/2}} \quad \text{equação 30} \end{aligned}$$

$$c = f_{12/1} (I/III_{12} - I/III_1) \quad \text{equação 31}$$

$$b = f_{12/1} \quad \text{equação 32}$$

Uma propriedade interessante das equações 26 e 30 é que ambas levam à equação 17 se c e d forem iguais a zero. Isto ocorre para a equação 30 quando $f_{12/1} \rightarrow 0$, e para a equação 26 quando o solvente S_{12} tem propriedades intermediárias entre aquelas dos solventes S_1 e S_2 de acordo com a equação 33 e 34.

$$f_{12/1} = \frac{1 + f_{2/1}}{2} \quad \text{equação 33}$$

$$I/III_{12} = \frac{I/III_1 + f_{2/1} I/III_2}{1 + f_{2/1}} \quad \text{equação 34}$$

Modelo m

Pode ser facilmente observado que os modelos 1 e o modelo 2 (visto em Resultados e Discussão) definidos respectivamente pelas equação 30 e equação 11, são casos particulares de um modelo mais geral definido pelo modelo de troca de solventes, mostrado abaixo.

$$\begin{aligned} \text{Ind}(S_1)_m + mS_2 & \quad \text{Ind}(S_2)_m + S_1 \\ \text{Ind}(S_1)_m + m/2 S_2 & \quad \text{Ind}(S_{12})_m + m/2 S_1 \end{aligned}$$

As constantes para esses processos são definidas por

$$f_{2/1} = \frac{X_2^L / X_1^L}{(X_2^0 / X_1^0)^m} \quad \text{equação (35)}$$

$$f_{12/1} = \frac{X_{12}^L / X_1^L}{(X_{12}^0 / X_1^0)^m} \quad \text{equação (36)}$$

E a equação final obtida é a equação 37.

$$I/III = I/III_1 + \frac{f_{2/1} (I/III_2 - I/III_1) (X_2^0)^m + c ((1-X_2^0) X_2^0)^{m/2}}{(1 - X_2^0)^m + f_{2/1} (X_2^0)^m + f_{12/1} ((1-X_2^0) X_2^0)^m} \quad \text{equação 37}$$

Neste modelo geral, m é o número de moléculas de solvente na microesfera de solvatação da sonda fluorescente afetando a sua intensidade de emissão. Os modelos 1 e 2 são os mesmos modelos gerais para os casos particulares onde $m=1$ e $m=2$ respectivamente.

Os três modelos definidos aqui foram testados para aplicação nos valores de I/III das misturas binárias de solvente a fim de determinar qual dos modelos descreveu melhor o comportamento dessas misturas. Os melhores ajustes das curvas experimentais foram obtidos com o modelo 2, conforme foi mostrado em Resultados e Discussão.

7.2 – Valores de I/III para as misturas de solventes estudadas

Tabela 10- Valores de I/III para misturas de acetonitrila com os solventes próticos:

água		metanol		etanol		<i>i</i> -propanol		<i>n</i> -butanol	
X_2^a	I/III^b	X_2^a	I/III^b	X_2^a	I/III^b	X_2^a	I/III^b	X_2^a	I/III^b
0	1,63	0	1,63	0	1,63	0	1,63	0	1,64
0,067	1,64	0,04	1,63	0,054	1,61	0,042	1,61	0,017	1,63
0,13	1,64	0,08	1,62	0,09	1,60	0,07	1,59	0,035	1,61
0,20	1,65	0,12	1,61	0,14	1,58	0,11	1,58	0,06	1,59
0,27	1,65	0,185	1,6	0,18	1,57	0,15	1,57	0,12	1,56
0,34	1,66	0,24	1,59	0,23	1,55	0,23	1,54	0,20	1,51
0,42	1,67	0,3	1,58	0,28	1,54	0,27	1,53	0,24	1,50
0,49	1,68	0,36	1,57	0,32	1,54	0,36	1,48	0,28	1,47
0,55	1,69	0,41	1,55	0,37	1,52	0,41	1,46	0,36	1,42
0,61	1,70	0,46	1,54	0,42	1,51	0,46	1,44	0,41	1,40
0,66	1,70	0,51	1,52	0,47	1,49	0,51	1,42	0,46	1,39
0,70	1,71	0,56	1,51	0,57	1,46	0,56	1,38	0,55	1,35
0,75	1,72	0,66	1,48	0,62	1,45	0,61	1,34	0,62	1,31
0,78	1,73	0,71	1,45	0,67	1,42	0,67	1,31	0,70	1,28
0,81	1,74	0,79	1,42	0,73	1,40	0,73	1,27	0,76	1,24
0,84	1,74	0,84	1,39	0,78	1,38	0,79	1,21	0,84	1,22
0,87	1,76	0,88	1,37	0,83	1,36	0,86	1,18	0,92	1,15
0,92	1,77	0,92	1,35	0,89	1,32	0,93	1,13	1,00	1,08
0,94	1,78	0,96	1,33	0,94	1,28	1,00	1,09		
0,96	1,79	1,00	1,3	1,00	1,18				
0,98	1,80								
1	1,81								

^a Fração em mol do solvente prótico; ^b valores obtidos dos espectros de emissão de fluorescência do pireno nas misturas binárias (ver texto).

Tabela 11- Valores de I/III para misturas de THF com os solventes próticos:

água		metanol		etanol		i-propanol		n-butanol	
X_2^a	I/III^b	X_2^a	I/III^b	X_2^a	I/III^b	X_2^a	I/III^b	X_2^a	I/III^b
0	1,21	0	1,21	0	1,21	0	1,21	0	1,21
0,16	1,25	0,040	1,29	0,055	1,23	0,021	1,25	0,018	1,22
0,23	1,28	0,078	1,31	0,082	1,24	0,064	1,25	0,036	1,23
0,34	1,30	0,11	1,32	0,13	1,24	0,11	1,26	0,091	1,26
0,42	1,31	0,18	1,33	0,18	1,24	0,15	1,26	0,13	1,28
0,53	1,32	0,25	1,34	0,26	1,25	0,21	1,26	0,18	1,28
0,66	1,33	0,34	1,34	0,33	1,25	0,27	1,26	0,20	1,29
0,70	1,34	0,42	1,34	0,42	1,25	0,31	1,25	0,29	1,29
0,75	1,35	0,57	1,34	0,48	1,25	0,36	1,25	0,37	1,29
0,80	1,39	0,67	1,34	0,54	1,25	0,42	1,24	0,43	1,28
0,82	1,40	0,75	1,34	0,58	1,25	0,48	1,23	0,47	1,29
0,87	1,42	0,82	1,33	0,76	1,25	0,52	1,23	0,57	1,27
0,91	1,45	0,89	1,33	0,85	1,24	0,62	1,22	0,67	1,25
0,95	1,49	0,95	1,32	0,93	1,23	0,72	1,20	0,78	1,20
0,97	1,66	1,00	1,30	0,96	1,20	0,76	1,20	0,83	1,17
1,00	1,80			1,00	1,17	0,81	1,18	0,89	1,14
						0,91	1,15	0,94	1,12
						0,95	1,13	1,00	1,06
						1,00	1,09		

^a Fração em mol do solvente prótico; ^b valores obtidos dos espectros de emissão de fluorescência do pireno nas misturas binárias (ver texto).

Tabela 12- Valores de I/III para misturas de DMSO com os solventes próticos:

água		metanol		etanol		<i>i</i> -propanol		<i>n</i> -butanol	
X_2^a	I/III^b	X_2^a	I/III^b	X_2^a	I/III^b	X_2^a	I/III^b	X_2^a	I/III^b
0	1,87	0	1,87	0	1,87	0	1,87	0	1,87
0,10	1,91	0,10	1,90	0,036	1,84	0,028	1,80	0,023	1,85
0,21	1,95	0,16	1,89	0,072	1,79	0,093	1,77	0,047	1,82
0,30	1,96	0,24	1,88	0,17	1,75	0,14	1,73	0,080	1,80
0,43	1,96	0,33	1,86	0,23	1,69	0,19	1,69	0,12	1,76
0,49	1,97	0,43	1,84	0,34	1,63	0,24	1,65	0,21	1,68
0,57	1,96	0,52	1,80	0,45	1,58	0,28	1,60	0,25	1,65
0,63	1,96	0,63	1,75	0,50	1,56	0,33	1,58	0,29	1,61
0,76	1,93	0,73	1,69	0,54	1,52	0,43	1,48	0,34	1,61
0,79	1,93	0,80	1,64	0,64	1,46	0,48	1,45	0,39	1,55
0,85	1,92	0,87	1,54	0,73	1,40	0,58	1,39	0,44	1,49
0,90	1,89	0,94	1,44	0,83	1,32	0,68	1,32	0,54	1,44
0,94	1,88	1,00	1,31	0,92	1,25	0,79	1,27	0,64	1,38
0,97	1,83			1,00	1,18	0,89	1,18	0,76	1,30
1,00	1,81					1,00	1,09	0,87	1,19
								1,00	1,07

^a Fração em mol do solvente prótico; ^b valores obtidos dos espectros de emissão de fluorescência do pireno nas misturas binárias (ver texto).

Tabela 13- Valores de I/III para misturas binárias de DMF com os solventes próticos:

água		metanol		etanol		<i>i</i> -propanol		<i>n</i> -butanol	
X_2^a	I/III^b	X_2^a	I/III^b	X_2^a	I/III^b	X_2^a	I/III^b	X_2^a	I/III^b
0	1,81	0	1,81	0	1,81	0	1,81	0	1,81
0,024	1,79	0,12	1,80	0,038	1,80	0,030	1,79	0,025	1,79
0,13	1,76	0,25	1,77	0,076	1,79	0,060	1,79	0,051	1,79
0,24	1,75	0,38	1,73	0,12	1,78	0,09	1,75	0,085	1,74
0,40	1,74	0,44	1,69	0,18	1,75	0,15	1,73	0,17	1,67
0,57	1,74	0,53	1,65	0,24	1,74	0,20	1,69	0,26	1,63
0,61	1,74	0,60	1,62	0,30	1,71	0,25	1,67	0,36	1,58
0,74	1,74	0,66	1,58	0,35	1,71	0,30	1,63	0,41	1,52
0,83	1,74	0,73	1,55	0,41	1,68	0,35	1,62	0,56	1,43
0,94	1,76	0,81	1,47	0,46	1,66	0,40	1,61	0,66	1,43
1,00	1,81	0,88	1,42	0,52	1,61	0,45	1,55	0,77	1,36
		0,94	1,38	0,56	1,60	0,50	1,55	0,88	1,25
		1,00	1,32	0,66	1,51	0,60	1,49	1,00	1,09
				0,75	1,47	0,70	1,43		
				0,84	1,39	0,80	1,38		
				0,92	1,28	0,90	1,27		
				1,00	1,19	0,94	1,20		
						1,00	1,13		

^a Fração em mol do solvente prótico; ^b valores obtidos dos espectros de emissão de fluorescência do pireno nas misturas binárias (ver texto).

Tabela 14- Valores de I/III para misturas binárias de DMF com D_2O

X_2^a	I/III^b
0	1,81
0,080	1,81
0,215	1,80
0,308	1,79
0,386	1,78
0,541	1,77
0,676	1,77
0,822	1,78
0,892	1,79
0,938	1,79
0,953	1,80
1	1,81

^a Fração em mol do solvente deuterado; ^b valores obtidos dos espectros de emissão de fluorescência do pireno nas misturas binárias (ver texto).

Tabela 15- Valores de I/III para misturas binárias de DMSO com D_2O

X_2^a	I/III^b
0	1,87
0,049	1,88
0,127	1,89
0,199	1,89
0,337	1,89
0,43	1,89
0,5	1,89
0,614	1,89
0,707	1,88
0,842	1,88
0,915	1,87
0,967	1,86
0,982	1,84
0,988	1,84
0,998	1,84
1	1,82

^a Fração em mol do solvente deuterado; ^b valores obtidos dos espectros de emissão de fluorescência do pireno nas misturas binárias (ver texto).